



Maria Manuela Gomez Sapatinha

Licenciatura em Química Aplicada

**Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em
contacto com aparas de madeira e
subsequentes características
colorimétricas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Prof. Dr. Marco Diogo Richter Gomes da Silva,
Dep. Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, UNL

Co-orientador: Prof. Dr. Maria João Cabrita, Dep.
Fitotecnia, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais
Mediterrânicas, UE

Júri:

Presidente: Prof. Doutor António Jorge Dias Parola,

Arguente: Doutora Raquel Marta Neves dos Santos Garcia

Vogal: Prof. Doutor Marco Diogo Richter Gomes da Silva



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro de 2015

“Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e
subsequentes características colorimétricas” © Maria Manuela Gomez Sapatinha, FCT-
UNL

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor

RESUMO

Neste trabalho fez-se o estudo do conteúdo de polifenóis totais (PT) por reação de Folin-Ciocalteu e das características colorimétricas por espectrofotometria e colorimetria de dois tipos de vinho: branco (Vb) e tinto (Vt) e o estudo evolutivo das mesmas características em soluções hidroalcoólicas (SH), miméticas ao vinho em teor alcoólico e pH. Tanto os vinhos como as soluções estiveram em contacto com vários tipos de espécies botânicas com potencial interesse enológico: Acácia (AC), Cerejeira (CJ), Castanheiro (CT) e Carvalho (CN) em concentrações de 50 g/L, 2 g/L e 6 g/L para as SH, Vb e Vt respetivamente todas elas com quatro graus de queima e duas morfologias: aparas e dominós (apenas SH). As SH-aparas estiveram 11 dias em contacto com as madeiras onde ao final do dia 9 se registou um teor de PT de 1128 (AC), 321 (CJ), 2346 (CT) e 1815 (CN) mg GAE/L para todos com queima ligeira, à exceção de castanheiro, que obteve o máximo na madeira sem queima. Nas SH-dominós o máximo de PT registou-se em carvalho sem queima com 1897 mg GAE/L, quando em contacto com a madeira num período superior a 9 meses. O estudo dos PT nos vinhos mostrou que as madeiras são capazes de os enriquecer com este tipo de compostos registando-se um aumento máximo de 74,44 mg GAE/L e de 979,93 mg GAE/L para os Vb e Vt respetivamente. No estudo colorimétrico por espectrofotometria foram avaliados os parâmetros CIELab de todas as SH e observou-se que L^* (luminosidade) tende a diminuir com o grau de queima e com o tempo para todas as madeiras. O parâmetro a^* (verde/vermelho) em AC e CJ diminui com os dias e com o grau de queima representando uma diminuição da componente vermelha. O inverso é observado em CT e CN. Por fim, b^* (azul/amarelo) tende a aumentar em todas as SH com os dias e a queima tornando a solução mais amarela. Comparando os vinhos com as suas testemunhas, em Vb L^* e b^* aumentam refletindo-se num aumento da cor amarela e a^* é mantido. Nos Vt, L^* diminui quando na presença das madeiras e a^* e b^* aumentam acrescentando a sua componente vermelha. Fez-se a avaliação de alguns voláteis das SH por GC/MS onde foram encontrados compostos com interesses organoléticos como é o caso da lactona do whisky nalgumas graus de queima para as espécies botânicas de cerejeira e carvalho.

Palavras-Chave: Vinho; Polifenóis totais; Cor; CIELab; Madeiras; Colorimetria; Voláteis; Cromatografia Gasosa; Espectrofotometria; Voláteis.

ABSTRACT

In this work, the study of total polyphenols (PT) was made by Folin-Ciocalteu reaction and the colorimetric features by spectrophotometry and colorimetry in two types of wine: white (Vb) and red (Vt) and the same features' evolutionary study in hydro alcoholic solutions (SH), mimetic of wine in alcoholic strength and pH. Both wines and solutions were in contact with several types of wood: Robinia (AC), Cherry (CJ), Chestnut (CT) and Oak (CN) in concentrations of 50 g/L, 2 g/L and 6 g/L for SH, Vb and Vt respectively, all of them with four toasting degrees (untoasted, light toast, medium toast and heavy toast) and two cuttings: chips and dominoes (only SH). The SH-chips were in contact with the woods for 11 days and at the end of the ninth day it was recorded a PT concentration of 1128 (AC), 321 (CJ), 2346 (CT) and 1815 (CN) mg GEA/L for all woods with light toast, except for the chestnut wood, which obtained the maximum in untoasted wood. In SH-dominoes, the maximum PT was recorded on untoasted oak with 1897 mg GAE/L when in contact with the wood for a period longer than 9 months. The PT study in wines showed that the woods are able to enrich them with these kind of compounds, with a maximum increase of 74,44 mg GAE/L and 979,93 mg GAE/L for Vb and Vt respectively. On the colorimetric study by spectrophotometry, the CIELab parameters of all the SH were assessed and it was found that L^* (luminosity) tends to decrease with toasting and time for all the woods. The parameter a^* (green/red) in AC and CJ decreases with the days passing by and toasting, representing a decrease in the red component. The opposite was observed in CT and CN. Finally, b^* (blue/yellow) tends to increase in all SH with the days passing by and toasting, turning the solution more yellow. Comparing the wines to its blank, in Vb, L^* and b^* increased reflecting an increase of the yellow colour and maintaining a^* . In Vt, L^* decreases when in presence of woods and a^* and b^* increase, adding its red component. An evaluation of some SH volatiles by GC/MS was made and some components with organoleptic relevance were found, such as the whisky lactone in some of the toasting in cherry and oak woods.

Keywords: Wine; Total Polyphenols, Colour, CIELab, Woods, Colorimetry; Volatiles, Gas Chromatography, Spectrophotometry; Volatile

ÍNDICE

1	Introdução	1
1.1	Vinho	1
1.1.1	Contexto Histórico	1
1.1.1.1	História e tradição	1
1.1.1.2	Início do cultivo da vinha e produção de vinho	1
1.1.1.3	Inserção de vinicultura na Península Ibérica	2
1.1.1.4	O vinho e a Vinha no Reino de Portugal	3
1.1.2	Enquadramento económico	4
1.1.2.1	Produção	4
1.1.2.2	Exportação e Importação	6
1.1.2.3	Consumo	7
1.2	Produção de vinho	10
1.2.1	Processo	10
1.2.2	Diferentes tipos de Vinho – Influência na cor	11
1.2.3	Envelhecimento em madeira	13
1.2.3.1	Fatores que afetam o envelhecimento	13
1.2.3.2	Influência da composição da madeira de Carvalho e da natureza do vinho na extração de aromas	14
1.2.3.3	Polifenóis no vinho	15
1.2.3.3.1	Taninos	17
1.2.3.3.2	Antocianinas	17
1.3	Química dos vinhos	19
1.3.1	Qualidade e Segurança	19
1.3.2	Estudo da cor	21

1.3.2.1	CIELAB.....	21
1.4	Objetivo.....	25
2	Procedimento Experimental	27
2.1	Material Utilizado	27
2.1.1	Reagentes	27
2.1.2	Equipamentos	27
2.2	Matéria-Prima.....	28
2.2.1	Madeiras.....	28
2.2.2	Vinhos.....	29
2.3	Preparação de Amostra	30
2.3.1	Soluções Hidroalcoólicas com Dominós.....	30
2.3.2	Soluções Hidroalcoólicas com Aparas.....	32
2.3.3	Vinhos.....	34
2.4	Parte Experimental	37
2.4.1	Características colorimétricas - Espectrofotometria UV-Vis	37
2.4.2	Determinação de polifenóis totais	38
2.4.3	Características colorimétricas - Colorimetria.....	42
2.4.4	Composição volátil	47
3	Discussão e resultados	49
3.1	Polifenóis Totais	49
3.1.1	Soluções hidroalcoólicas de Aparas	51
3.1.2	Soluções Hidroalcoólicas de Dominós	53
3.1.3	Vinho – Perfil polifenólico	55
3.2	Estudo espectrofotométrico	59
3.2.1	Soluções Hidroalcoólicas com aparas - Alterações.....	59

3.2.1.1	Luminosidade – Parâmetro L^*	59
3.2.1.2	Verde/Vermelho – Parâmetro a^*	63
3.2.1.3	Azul/Amarelo – Parâmetro b^*	66
3.2.2	Comparação com os valores obtidos em dominós	69
3.2.3	Alterações dos valores CIELab nos vinhos	70
3.3	Colorimetria.....	74
3.3.1	Colorimetria – técnica 1	74
3.3.1.1	Soluções Hidroalcoólicas	74
3.3.1.2	Vinhos.....	78
3.3.2	Colorimetria – técnica 2	80
3.4	Compostos voláteis.....	83
3.4.1	Variações com Grau de queima.....	83
3.4.2	Variações com os dias	88
3.4.3	Alterações nos vinhos.....	90
4	Conclusão	93
5	Bibliografia	95
6	Anexo	101
6.1	Anexo 1	101
6.2	Anexo 2	102
6.3	Anexo 3	103
6.4	Anexo 4	110

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Jarros do período neolítico encontrados em Jiahu e datadas de 7000 a.C. Análises feitas a estes recipientes revelaram que os mesmos teriam contido bebidas fermentadas de arroz, mel e frutas, entre as quais a uva [2].....	2
Figura 1.2 - Linha temporal dos povos ocupantes da península ibérica que produziam e trocavam produtos vinícolas. [4]	3
Figura 1.3 – Evolução do vinho produzido a nível mundial e posição de Portugal em termos produtivos (Fonte: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7]).....	5
Figura 1.4 – Evolução da produção de vinho de 2004 a 2015 em Portugal (Fonte: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7]).....	6
Figura 1.5 – Volume de vinho e capital gerado com o mesmo em Portugal entre 2010 e 2014 (Adaptado de: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7]).....	7
Figura 1.6 - Consumo de litros de vinho per capita durante o ano de 2012 (Adaptado de: winesur – most wine consuming countries [8])	8
Figura 1.7 – Produção e consumo em Portugal entre 2001 e 2014 (Fonte: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7])	9
Figura 1.8 – Coloração característica dos vinhos brancos (Adaptado de: winefolly-wine color chart, 2015 [12])	12
Figura 1.9 - – Coloração característica dos vinhos tintos. (Adaptado de: winefolly-wine color chart, Setembro 2015 [12])	13
Figura 1.10 – Formas conjugadas das antocianinas existentes nos vinhos e respetivas colorações [16].....	18
Figura 1.11 – Espectro de UV-Visível de amostras de vinho tinto e branco (adaptado de: Brain, G., 2009 [20]).....	22
Figura 1.12 – Diagrama colorimétrico (adaptado de: OIV, 2006 [21])	23
Figura 1.13 – Expressões matemáticas para o cálculo de L^* , a^* e b^* [21]	25

Figura 2.1 – Soluções hidroalcoólicas com dominós, (A)-acácia; (B)-Cerejeira; (C)-Castanheiro;(D)-Carvalho, Da esquerda para a direita em A,B,C e D estão as madeiras sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte,	31
Figura 2.2 – Eppendorfs com vinho branco após centrifugação.	32
Figura 2.3 – Exemplo de preparação das soluções hidroalcoólicas com duplicados, Erlenmeyeres de 250 mL com 10g de madeira de acácia sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte (da esquerda para a direita),.....	33
Figura 2.4 – Amostras de vinho branco, Vinho com castanheiro sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte (da esquerda para a direita),	35
Figura 2.5 – Ensaio de determinação de polifenóis totais com SH-acácia.....	40
Figura 2.6 – Estrutura química do ácido gálico.....	41
Figura 2.7 – Equipamento utilizado para a execução da técnica 1 de colorimetria. (A)-MINOLTA Chroma CR-300;(B)-cabeça de leitura.....	43
Figura 2.8 – Suporte para leitura de amostras (tecnica1). (A) – Posição para cabeça de leitura; (B)- Cavidade de esferovite com recipiente e amostra.....	44
Figura 2.9 - Equipamento utilizado para a execução da técnica 2 de colorimetria.....	45
Figura 2.10 – Representação do procedimento adotado para leitura das amostras na técnica 2 de colorimetria	46
Figura 2.11 – Equipamento de cromatografia gasosa/espetrometria de massa com injetor automático usado no estudo de compostos voláteis.....	48
Figura 3.1 -Fonte de proveniência de taninos e outros polifenóis no vinho	50
Figura 3.2 - Reação de oxidação do ácido gálico por parte do molibdénio presente no reagente de Folin- Ciocalteu(adaptado de: oliveira et.al, 2009)	51
Figura 3.3 - Polifenóis totais das soluções hidroalcoólicas das diferentes madeiras. Perfis evolutivos ao longo dos onze dias de análise. Valores expressos em mg GAE (equivalentes de ácido gálico) / L de solução.....	52
Figura 3.4 - Conteúdo polifenólico das soluções hidroalcoólicas de dominós.	54

Figura 3.5 – Conteúdo polifenólico dos vinhos brancos após fermentação na presença das madeiras	56
Figura 3.6 - Conteúdo polifenólico dos vinhos tintos após 13 dias na presença das madeiras	57
Figura 3.7 - Gráfico de evolução do parâmetro L^* nas soluções de acácia com diferentes queimas ao longo dos dias de análise.....	60
Figura 3.8 - Gráfico de evolução do parâmetro L^* nas soluções de cerejeira com diferentes queimas ao longo dos dias de análise	60
Figura 3.9 - Gráfico de evolução do parâmetro L^* nas soluções de castanheiro com diferentes queimas ao longo dos dias de análise	61
Figura 3.10 - Gráfico de evolução do parâmetro L^* nas soluções de Carvalho Nacional com diferentes queimas ao longo dos dias de análise	62
Figura 3.11 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de acácia com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise.....	63
Figura 3.12 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de Cerejeira com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise.....	64
Figura 3.13 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de Castanheiro com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise.....	65
Figura 3.14 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de Carvalho Nacional com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise	66
Figura 3.15 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de acácia com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise.....	67
Figura 3.16 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de cerejeira com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise.....	67
Figura 3.17 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de castanheiro com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise.....	68
Figura 3.18 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de carvalho nacional com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise	69

Figura 3.19 – Representação gráfica dos valores de L^* , a^* e b^* obtidos a partir da análise espectrofotométrica das soluções hidroalcoólicas de dominós	70
Figura 3.20 - Representação gráfica dos valores de L^* , a^* e b^* obtidos a partir da análise espectrofotométrica dos vinhos brancos	72
Figura 3.21 - Representação gráfica dos valores de L^* , a^* e b^* obtidos a partir da análise espectrofotométrica dos vinhos tintos.....	73
Figura 3.22 – Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L^* - anexo3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.	75
Figura 3.23 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a^* - anexo3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.	76
Figura 3.24 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b^* - anexo3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.	77
Figura 3.25 - Comparação dos resultados CIELab de vinho branco obtidos por espectrofotometria (E) e por colorimetria-tecnica1 (C).....	79
Figura 3.26 - Comparação dos resultados CIELab de vinho tinto obtidos por espectrofotometria (E) e por colorimetria-tecnica1 (C).....	80
Figura 3.27 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L^* - anexo 3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.	81
Figura 3.28 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a^* -anexo 3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.	82

Figura 3.29 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b*- anexo 3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.	82
Figura 3.30 – Cromatograma de GC/MS das SH da madeira de acácia. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte, (*)siloxanos; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2.	85
Figura 3.31– Cromatograma de GC/MS das SH da madeira de cerejeira. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte. (*)siloxanos; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2	86
Figura 3.32 - Cromatogramas de GC/MS das SH da madeira de castanheiro. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte. (*)Siloxano; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2	87
Figura 3.33- Cromatogramas de GC/MS dos extratos da madeira de Carvalho Nacional. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte. (*)siloxanos; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2	88
Figura 3.34 – Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) com queima média no dia 2 (1) e no dia 9 (2).....	89
Figura 3.35 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) com queima média no dia 2 (1) e no dia 9 (2)	89
Figura 3.36 - Perfil cromatográfico de GC/MS dos vinhos brancos, (A) Vb-Testemunha; (B) Vb- Acácia queima média; (C) Vb-Cerejeira queima média (D) Vb-Carvalho queima média (E) Vb-Castanheiro queima média	90
Figura 3.37 - Perfil cromatográfico de GC/MS dos vinhos tinto. (A) Vt-Testemunha; (B) Vt- Acácia queima média; (C) Vt-Cerejeira queima média (D) Vt-Carvalho queima média (E) Vt-Castanheiro queima média	91
Figura 6.1 – Exportações de Portugal (fonte: IVV,2014 [7])	101
Figura 6.2 - Importações de Portugal (fonte: IVV,2014 [7])	101
Figura 6.3 - Esquema geral da produção de vinho [4].....	102

Figura 6.4 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L*- Figura 3.22 presente no Capítulo 3.3.1.ampliada (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.....	103
Figura 6.5 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a*- Figura 3.23 presente no Capítulo 3.3.1.ampliada (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.....	104
Figura 6.6 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b*- Figura 3.24 presente no Capítulo 3.3.1.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.....	105
Figura 6.7 - Comparação dos resultados CIELab de SH- dominós obtidos por espectrofotometria (E) e por colorimetria-tecnica1 (C).....	106
Figura 6.8 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L*- Figura 3.27 presente no Capítulo 3.3.2.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.....	107
Figura 6.9 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a*- Figura 3.28 presente no Capítulo 3.3.2.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.....	108
Figura 6.10 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b*- Figura 3.28 presente no Capítulo 3.3.2.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.....	109
Figura 6.11 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) sem queima no dia 2 (1) e no dia 9 (2)	110
Figura 6.12 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) sem queima no dia 2 (1) e no dia 9 (2).....	110

Figura 6.13 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) com queima ligeira no dia 2 (1) e no dia 9 (2).....	111
Figura 6.14 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) com queima ligeira no dia 2 (1) e no dia 9 (2)	111
Figura 6.15 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) com queima Forte no dia 2 (1) e no dia 9 (2)	112
Figura 6.16 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) com queima forte no dia 2 (1) e no dia 9 (2)	112

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Concentrações ($\mu\text{g/L}$) de compostos voláteis nos vinhos após estágio em barris de carvalho com diferentes números de utilizações (adaptado de: Garde-Cerdán et.al, 2006 [14]).....	14
Tabela 1.2 – Exemplos de compostos não-flavonoides no vinho.....	16
Tabela 1.3 - Exemplos de compostos flavonoides no vinho e sistema de anéis dos mesmos.....	16
Tabela 1.4 – Composição do vinho. Principais componentes controlados. (adaptado: Robinon J., 2006 [5]).....	20
Tabela 2.1 - Resumo dos reagentes utilizados	27
Tabela 2.2 - Descrição dos equipamentos utilizados no trabalho experimental	27
Tabela 2.3 - Fornecedor e lotes das madeiras usadas.....	28
Tabela 2.4 – Informações dos vinhos usados na experiência, propriedades relevantes e fase de emprego das aparas.....	29
Tabela 3.1 - Valores de polifenóis totais presentes nas soluções hidroalcoólicas no dia 9 (valores em mg de equivalentes de ácido gálico/ dm^3).....	53
Tabela 3.2 – Identificação dos compostos presentes nas madeiras	84

ABREVIATURAS

AC - Acácia

CIE - *Commission internationale de l'éclairage*

CJ - Cerejeira

CN – Carvalho Nacional

CT - Castanheiro

DOP – Denominação de Origem Protegida

GAE – Equivalentes de ácido gálico

IVV – Instituto da vinha e do vinho

OIV - *International Organisation of Vine and Wine*

SH – Soluções Hidroalcoólicas

SQ – Sem queima

QF – Queima Forte

QL – Queima Ligeira

QM – Queima Média

Vb – Vinho Branco

Vt – Vinho Tinto

1 Introdução

1.1 VINHO

1.1.1 CONTEXTO HISTÓRICO

1.1.1.1 História e tradição

Toda a história mundial e em particular a história europeia estão intimamente interligadas com a produção e uso de vinho devido ao seu cariz socioeconómico desenvolvido pelos povos ao longo de gerações. O consumo desta bebida tornou-se tradição e em Portugal foi e continua a ser parte integrante do património cultural com uma forte vertente da economia do país [1].

1.1.1.2 Início do cultivo da vinha e produção de vinho

O vinho é uma bebida alcoólica feita, geralmente, a partir da fermentação dum fruto da videira com uma história de milhares de anos. Desde há muito que esta bebida tem vindo a acompanhar ascensões e declínios de civilizações e impérios, estando a sua produção fortemente interligada com a agricultura ao longo dos anos. O cultivo de vinha é realizado entre os povos europeus desde os anos 12.000 a.C. no entanto não há qualquer registo de produção de vinho que remonte a essas datas. Pensa-se ter sido na Ásia de há 9000 anos atrás que a utilização de uva fermentada terá tido o seu início. Mais especificamente, foi na China que terão sido encontrados os vestígios mais antigos da utilização de uva como parte integrante uma bebida fermentada feita a partir de arroz, mel e outras frutas (Figura 1.1). Só em 4000 a.C. é que a produção de vinho terá chegado aos povos europeus [2,3].



Figura 1.1 - Jarros do período neolítico encontrados em Jiahu e datadas de 7000 a.C. Análises feitas a estes recipientes revelaram que os mesmos teriam contido bebidas fermentadas de arroz, mel e frutas, entre as quais a uva [2]

1.1.1.3 Inserção de vinicultura na Península Ibérica

Foi há cerca de 4000 anos que o povo Tartesso terá cultivado a primeira vinha na península ibérica para produção de vinho, que na época era usado como moeda de troca no comércio, sobretudo na comercialização de metais (Figura 1.2). As técnicas rudimentares dos Tartessos são mantidas por vários anos até ao século VI a.C. quando se deram as invasões por parte dos Gregos, Celtas e Romanos que trouxeram consigo conhecimentos vitícolas mais avançados e novas técnicas de tanoaria. O povo bárbaro, no século sétimo, conquistou a península ibérica adotando alguns dos costumes já enraizados na região entre os quais o cultivo da vinha e o uso do vinho em rituais religiosos. Passado um século, os árabes reivindicam a península ibérica como sua e transformam a sua agricultura, nomeadamente a vinicultura. O consumo de bebidas fermentadas era proibido pela religião muçulmana, mas a produção de vinho não podia ser dispensada totalmente, uma vez que, na economia árabe a agricultura era muito importante e o vinho continuava a ser uma moeda de troca [4].



Figura 1.2 - Linha temporal dos povos ocupantes da península ibérica que produziam e trocavam produtos vinícolas. [4]

1.1.1.4 O Vinho e a Vinha no Reino de Portugal

Com a reconquista da península pelos cristãos e formação do condado portugalense muitas vinhas terão sido destruídas devido às batalhas travadas. Em 1249, já com o território português livre da ocupação muçulmana, várias terras foram doadas para cultivo exclusivo de vinhas de modo a reaver o património vinícola perdido. É no século XII que as vinhas ganham grande importância pelas mãos dos clérigos que as cultivam em larga escala, não só por motivos económicos, mas novamente para rituais religiosos. Mais tarde, na época dos descobrimentos portugueses, o vinho começa a ser transportado e comercializado por todo o mundo armazenado em barricas durante as viagens onde adquiria propriedades bastante apreciadas. Este tipo de vinho tornar-se-ia conhecido por todo o mundo como “Roda” ou “Torna Viagem” sendo vendido em Portugal a preços muito elevados tornando Lisboa do século XVI o maior centro de consumo e distribuição de vinho. A história do vinho em Portugal do século XVIII fica marcada por várias medidas impostas por Marquês de Pombal sobre o cultivo de vinhas e sobre a importação de vinhos em especial para Inglaterra. Desde então, que o vinho e a vinicultura têm um papel importante não só na economia portuguesa mas também nas relações com o estrangeiro [4].

1.1.2 ENQUADRAMENTO ECONÓMICO

1.1.2.1 Produção

O mercado relacionado com a venda e consumo de vinho é complexo. Existem inúmeros produtos relacionados com esta área que criam diferentes padrões de consumo a nível mundial, tendo cada país as suas preferências tornando a produção entre países característica dentro dos mesmos. A capacidade de produção de um país ou região vinícola está intimamente relacionada com as condições climáticas sentidas mas também com o tipo de procura que se faz sentir em cada ano. No ano de 1991 a produção vinhateira viu-se particularmente afetada por todo o mundo. As fortes e rigorosas geadas que se fizeram sentir na primavera desse mesmo ano prejudicaram a floração de muitas plantações agrícolas diminuindo o volume de produto. Em 2004 foi sentido o fenómeno contrário. As condições climáticas desse ano foram em todo favoráveis, aumentando a produção. A Europa foi particularmente privilegiada chegando a produzir o suficiente para atingir uma cota de 70% do vinho produzido a nível mundial, seguida da América e Ásia. Atualmente a produção na Europa tem vindo a decrescer sobretudo em países como a França e a Itália. Por outro lado, países como os Estados Unidos, Chile, Argentina e Espanha estão a expandir a sua área vinícola e a aumentar o seu volume de vinho produzido, como ilustrado na Figura 1.3. Em 2014, a produção mundial de vinho foi de 288 milhões de hectolitros o que representa uma diminuição a nível mundial face aos 291 milhões produzidos em 2013. Generalizando um pouco, a produção de vinho nos últimos anos tem-se mantido entre os 250 milhões de hectolitros e os 300 milhões de hectolitros o que é excessivo para os padrões de consumo adotados mundialmente [1, 5-7].

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e
subsequentes características colorimétricas

A	2009/10 (1.000 hl)	2013/14 (1.000 hl)	Variação Quinquénio
Outros	41 692	38 580	-7%
Portugal	5 894	6 231	6%
Alemanha	9 228	8 409	-9%
África do Sul	9 986	10 980	10%
China	12 800	11 780	-8%
Austrália	11 784	12 310	4%
Chile	10 093	12 846	27%
Argentina	12 135	14 984	23%
EUA	21 965	23 500	7%
França	46 743	41 491	-11%
Espanha	39 232	52 460	34%
Itália	50 665	54 029	7%
Total Mundial	272 217	287 600	6%

Fonte: Office International de la Vigne et du Vin; CE – DGADR; IVV, IP

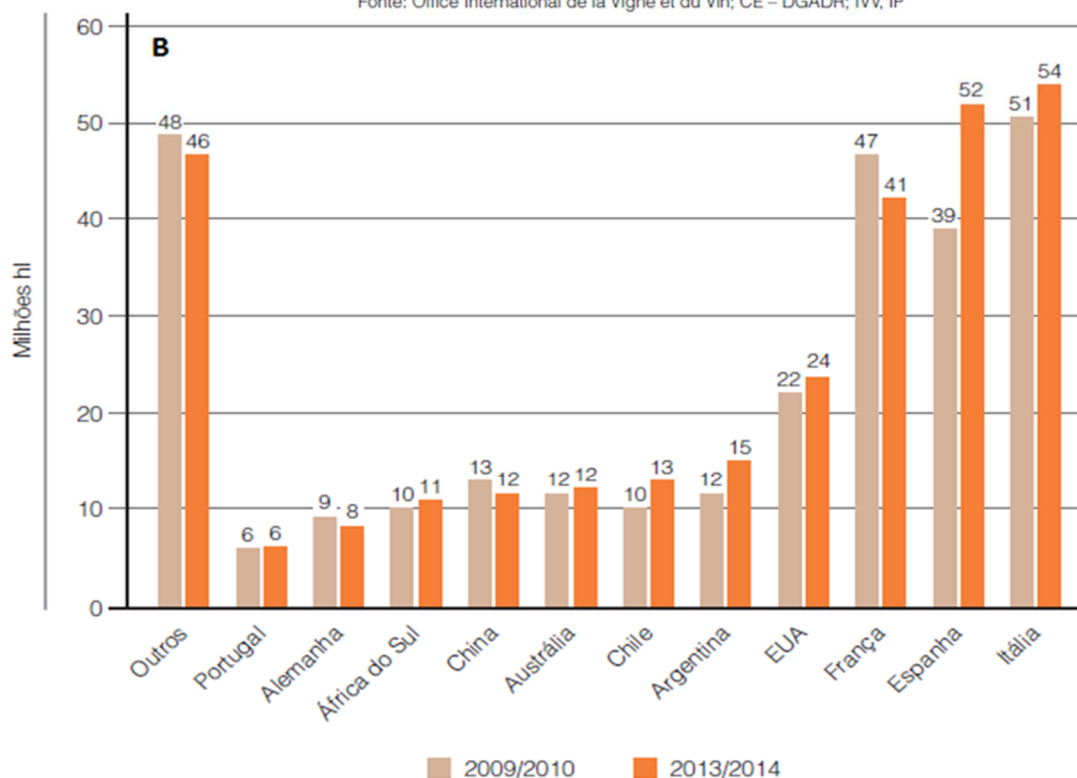


Figura 1.3 – Evolução do vinho produzido a nível mundial e posição de Portugal em termos produtivos (Fonte: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7])

Em Portugal a produção de vinho encontra-se ente os 7543 mil hectolitros e os 5622 mil hectolitros nos últimos dez anos. Na campanha de 2006/07 registou-se a maior produção a nível nacional neste período e em 2011/12 a produção mais reduzida como é possível ver na Figura 1.4 que ilustra a evolução da produção de vinho em

Portugal de 2004 a 2015 onde é reflectida a adaptação na procura de novos mercados [7].

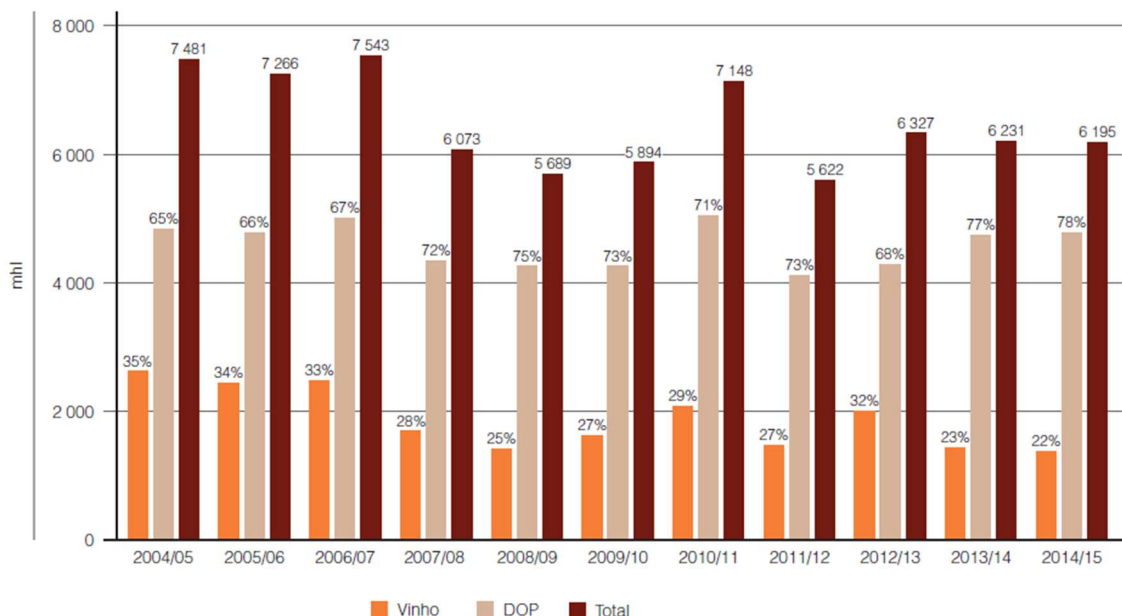


Figura 1.4 – Evolução da produção de vinho de 2004 a 2015 em Portugal (Fonte: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7])

1.1.2.2 Exportação e Importação

Apesar da produção de vinho se encontrar em baixa, o montante que ela gera tem vindo sempre a crescer. O vinho como matéria-prima tem aumentado o seu preço ao longo dos anos. Na Figura 1.5 encontra-se representada a exportação de vinho de Portugal registada desde 2010. No gráfico vemos que foi em 2012 o ano de maior exportação de volume de vinho e, que desde então, a mesma tem baixado até valores de 2,8 milhões de hectolitros. No mesmo período é visível que o total de vendas é crescente, mas não com o mesmo vigor que nos anos anteriores. Portugal exporta principalmente para 25 países dentro e fora da Europa (Anexo 1). Em 2010 exportava 19,3% da sua produção para França, tendência que se tem perdido. No ano 2011 o maior importador de vinho português passou a ser Angola, consumindo atualmente 627 mil hectolitros de vinho português o que representa 22% do volume nacional produzido. O vinho estrangeiro de eleição pelos portugueses é o espanhol uma vez que em 2014, 95% do volume de vinho importado tinha como origem a Espanha [6,7].

Exportação de vinho em Portugal. Volume vendido vs. Capital gerado

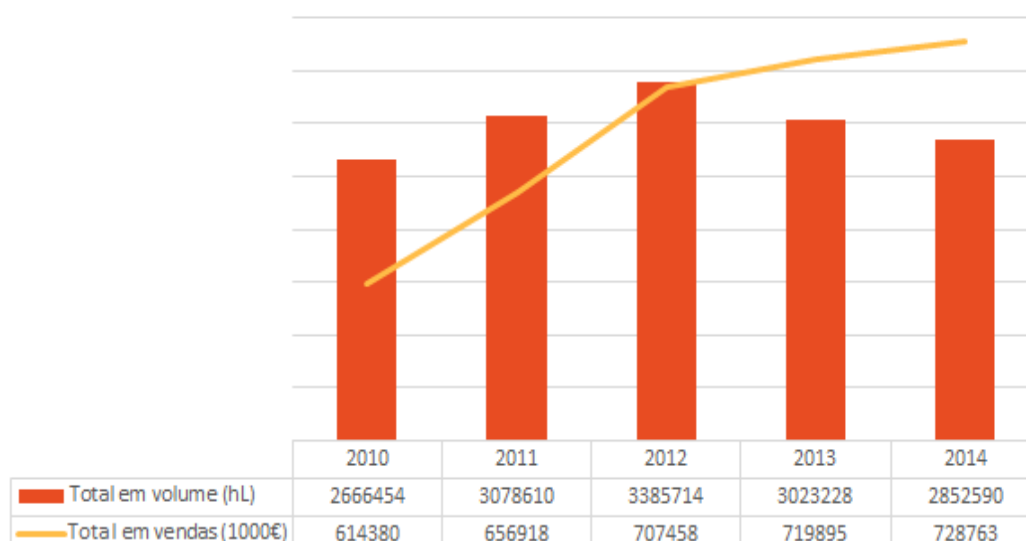


Figura 1.5 – Volume de vinho e capital gerado com o mesmo em Portugal entre 2010 e 2014 (Adaptado de: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7])

1.1.2.3 Consumo

O vinho é uma das bebidas mais internacionalizadas e os seus padrões de consumo têm-se vindo a modificar com o decorrer dos anos e tendências das épocas. Nos anos 70s mais precisamente entre 1976 e 1980 a procura por bebidas de origem vinícola e particularmente pelo vinho sofre uma grande queda afetando a economia europeia e, particularmente, os países com maiores volumes de produção de vinhos. O declínio de vendas da bebida chegou mesmo a ser problemático, não só em termos económicos, mas também de armazenagem uma vez que o volume produzido excedeu em cerca de 60 milhões de hectolitros o volume de vendas. Desde então, a procura têm vindo a crescer gradualmente. Esta fase de ascensão da procura da bebida deve-se sobretudo aos novos hábitos de consumo de vinho por parte dos países nórdicos e do centro europeu que cada vez mais apreciam a companhia desta bebida na sua mesa. Segundo as informações cedidas pela OIV resultante dos estudos realizados à escala global, o consumo estimado de vinho no ano de 2014 é aproximadamente de 243 milhões de hectolitros, o que não obstante, se revela uma diminuição de 2,4 milhões em relação ao ano de 2013. Os maiores consumidores do vinho são classicamente também os

maiores produtores, onde por ordem decrescente de consumo *per capita* surge Luxemburgo, França, Itália, Portugal, Suíça, Hungria e Espanha e o maior consumidor não produtor é a Dinamarca (Figura 1.6) [5,6].



Figura 1.6 - Consumo de litros de vinho per capita durante o ano de 2012 (Adaptado de: winesur – most wine consuming countries [8])

A grande maioria destes países encontram-se na Europa mas no período entre 2000 e 2013 o que se tem observado é que o consumo por parte destes países estagnou, não sendo atualmente, estes os maiores incitadores do aumento do consumo de vinho neste período. Em Portugal a paralisação no volume de vinho consumido também é visível (Figura 1.7) acompanhado o ritmo europeu. A modificação no mapa de consumo de vinho representa um aumento de 8% no vinho consumido fora da união europeia e a criação de novos mercados. Países como a China que importou 15,8 milhões de hectolitros e Angola representam atualmente grande potencial de venda e um novo desafio para qualquer produtor de vinho que pretenda entrar nestes mercados. Apesar da pequena diminuição de 2,2% no volume do vinho sentida em relação a 2013 o vinho como produto continua a mover milhões de euros, sendo que

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

em 2014 este mercado valia 25 700 milhões de euros registando um aumento de 1,5% em relação ao ano anterior [5,6,9].

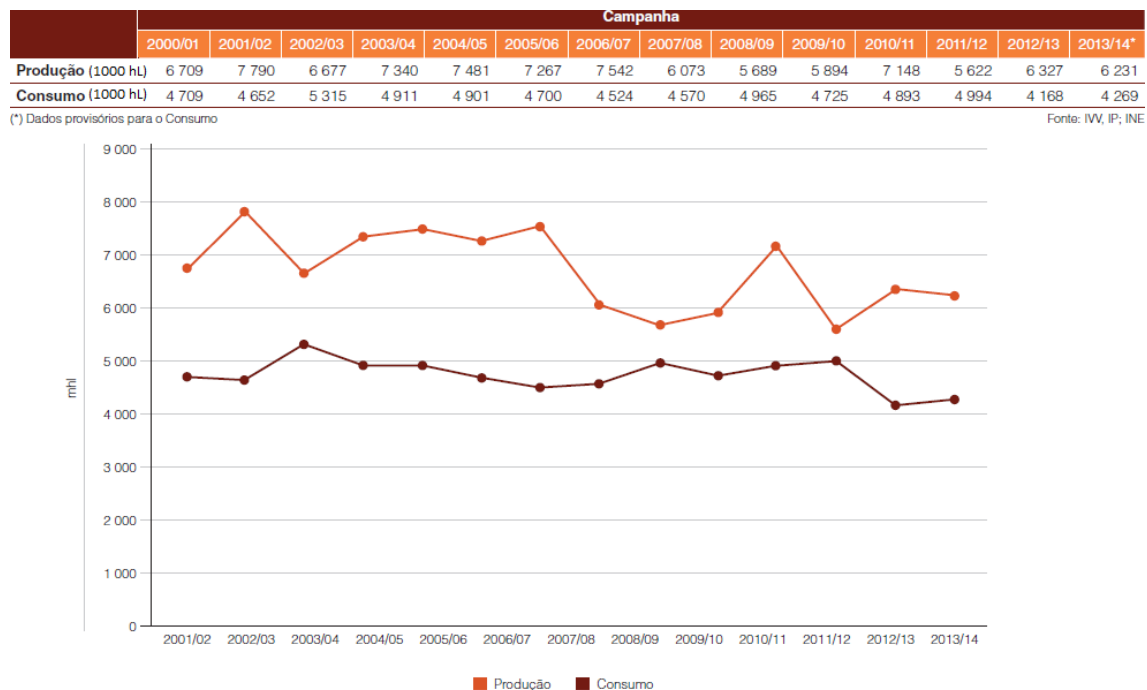


Figura 1.7 – Produção e consumo em Portugal entre 2001 e 2014 (Fonte: Anuário da vinha e do vinho, 2014 [7])

1.2 PRODUÇÃO DE VINHO

1.2.1 PROCESSO

O processo de vinificação é uma arte já conhecida desde há centenas de anos e que tem vindo a ser aperfeiçoada.. A evolução do conhecimento químico e dos processos biológicos subjacentes à produção têm ajudado a melhorar o produto final, maximizando os lucros obtidos pelos produtores de vinho. Um processo de produção antes de ser iniciado tem implícito todo um planeamento. Deve ser claro para um produtor toda a energia e recurso humanos e financeiros que devem ser dispensados para uma produção. Um planeamento no campo da química também se pode revelar uma mais-valia. A partir do estudo químico é possível estimar a quantidade e a qualidade do vinho obtido numa campanha e adaptar toda uma intervenção do departamento de marketing para conseguir a melhor resposta financeira por parte do consumidor final.

É na vinha que começa todo o processo de vinificação como podemos ver no Anexo 1. A fase inicial é demarcada por uma sequência de operações básicas que começam pela apanha e transporte de uva. Depois de a uva ser recebida no seu destino, que será a adega, estas passam por um processo de controlo de qualidade que visa a extração dos frutos que não reúnem condições para a passagem ao processo de esmagamento e posteriormente para produção de vinho. O processo de esmagamento é um processo onde os bagos de uvas são parcial ou totalmente calcados, rompendo a sua película e fazendo com que estas libertem os sucos do seu interior. É também neste processo que se retiram as partes lenhosas dos cachos. A libertação dos sucos permite então que os açúcares contidos no fruto entrem em contacto com células de leveduras o que torna possível o processo de fermentação. O novo vinho passa por todo um processo de clarificação e estabilização e, como último passo, segue para o engarrafamento [5,10,11].

1.2.2 DIFERENTES TIPOS DE VINHO – INFLUÊNCIA NA COR

É característico do vinho branco a sua coloração amarelada (Figura 1.8). A grande maioria dos vinhos brancos são produzidos a partir de uvas brancas, apesar de também poderem ter uvas com bagos mais escuras na sua composição, o que não interfere drasticamente na sua cor devido ao diminuto de tempo em contacto com a película da uva que é separada no início da preparação do vinho. O vinho branco é distinto do vinho tinto pela quantidade de antocianinas e taninos na sua composição. Os vinhos brancos são muito menos pigmentados em virtude da tecnologia de produção inerente aos mesmos onde se elimina a utilização da película e grainha das uvas. O aumento do contacto com a película e grainhas no vinho branco irá facultar mais compostos fenólicos. Este contacto tem de ser cuidadosamente controlado e balanceado pois, o excesso de taninos da película no vinho branco, pode promover a adstringência tornando-o desagradável ao palato. Porém deve promover a maximização da extracção dos sabores vindos de toda a uva. Devido aos delicados sabores e ao reduzido conteúdo fenólico os vinhos brancos estão muito mais sujeitos a oxidação que os vinhos tintos. Apesar disso os vinhos brancos não são menos interessantes para os apreciadores e também são capazes de envelhecer melhorando algumas das suas características [5].



Figura 1.8 – Coloração característica dos vinhos brancos (Adaptado de: winefolly-wine color chart, 2015 [12])

O vinho tinto tem uma cor característica que varia entre o vermelho e o roxo (Figura 1.9). Este vinho começa pela mistura do sumo da uva com as grainhas e a película que depois fermenta para dar origem à bebida como a conhecemos. Se a fermentação das películas, sementes e sumo da uva não fosse conjunta daria origem a um vinho rosé. A forte componente em antocianinas e outros compostos fenólicos têm precisamente a sua origem na película do fruto, bem como os compostos que darão origem ao seu sabor. Estes compostos em conjunto com o oxigénio dissolvido na bebida irão desenvolver taninos pigmentados que, em conjunto com outros taninos sem cor provenientes do fruto irão conferir textura e características colorimétricas à bebida. A cor final de um vinho depende em muito da qualidade ou qualidades de uvas utilizadas para a sua confeção mas também do procedimento de produção, incluindo a fermentação maloláctica, do pH do vinho e posteriormente da fase de envelhecimento e do tempo da mesma [5].



Figura 1.9 - – Coloração característica dos vinhos tintos. (Adaptado de: winefolly-wine color chart, Setembro 2015 [12])

1.2.3 ENVELHECIMENTO EM MADEIRA

1.2.3.1 Fatores que afetam o envelhecimento

O envelhecimento tem um efeito muito importante nas características organoléticas de um vinho, nomeadamente no aroma, cor e corpo. É um processo complexo que irá depender de vários fatores. A qualidade do vinho depois do seu estágio irá depender do tipo de madeira usado, da sua composição, da composição do vinho, do tempo de estágio e das condições de acondicionamento, principalmente, havendo ainda outros fatores influentes. A madeira classicamente usada para o estágio do vinho é por excelência a madeira de carvalho. Em Portugal e na comunidade europeia a lei não contempla o uso de outras madeiras em produtos vitivinícolas. Segundo o Regulamento (CE) N.º 606/2009 – apêndice 9 a única madeira capaz de ser utilizada para fins enológicos “devem provir exclusivamente da espécie *Quercus*”. Este

regulamento contempla ainda o uso de quatro tipos de queima mas sem qualquer tratamento químico enzimático ou físico, para além do aquecimento [5,13].

1.2.3.2 Influência da composição da madeira de Carvalho e da natureza do vinho na extração de aromas

A composição da madeira de carvalho está intimamente ligada à sua origem geográfica, espécie, época do ano de recolha e ainda aos tratamentos térmicos a que é sujeita. As espécies de carvalho mais utilizadas são as de carvalho americano e carvalho francês. Estas espécies são conhecidas e já estudadas anteriormente por terem a capacidade de ceder aos vinhos compostos voláteis com os que se encontram listados na Tabela 1.1. Portugal também se dedica à produção de carvalho para fins enológicos, os quais são conhecidos por darem aos vinhos um toque e sabor aveludado. O tratamento térmico das madeiras tem grande influência na composição da madeira, sobretudo a volátil. Com o aumento do grau de queima, os compostos derivados do furano tendem a aumentar por degradação térmica da hemicelulose/celulose da madeira. Os compostos fenólicos têm a sua origem na degradação da lignina e as lactonas originam-se a partir da desidratação de ácidos presentes nas madeiras. Há autores que apoiam que para o envelhecimento do vinho maximizar a sua composição volátil e qualidade, a queima usada na madeira de estágio deve ser média [14,15].

Tabela 1.1 – Concentrações (µg/L) de compostos voláteis nos vinhos após estágio em barris de carvalho com diferentes números de utilizações (adaptado de: Garde-Cerdán et.al, 2006 [14])

Origem do Carvalho	Novo		Com 3 utilizações		Com 5 utilizações	
	América	França	América	França	América	França
<i>Furfural</i>	~4500	~4700	n.s.	n.s.	90	148
<i>Vanilina</i>	n.s.	n.s.	~90	~50	15	30
<i>Eugenol</i>	~22	~22	n.s.	n.s.	20	18
<i>Guaiacol</i>	~53	~49	~10	~10	6	5
<i>Creosol</i>	~15	~15	~8	~8	0.05	0.03
<i>Lactona do Whisky (cis)</i>	~225	~120	~120	~80	129	66
<i>Lactona do Whisky (trans)</i>	~40	~90	~10	~25	26	41

n.s – sem informação

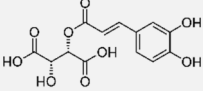
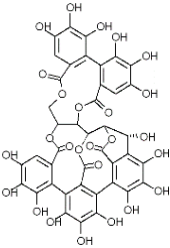
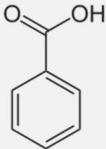
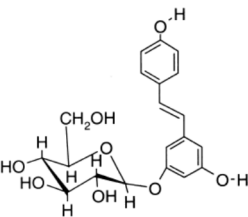
Tipos de vinho diferentes, influenciam de modo distinto o padrão de extração de compostos das madeiras para a sua matriz o que está particularmente ligado ao teor alcoólico do vinho. Teores alcoólicos mais elevados no vinho favorecem a extração de aromatizantes, especialmente quando os compostos subjacentes a estas propriedades são as lactonas. A concentração de SO₂ adicionado no processo de vinificação também afeta a extração de compostos com grupos carbonilo para o vinho. O dióxido de enxofre em solução atrasa o aparecimento de compostos como o HMF (hidroximetilfurfural), vanilina e coniferaldeído, requerendo-se mais tempos em estágio para que estes apareçam em solução [5].

1.2.3.3 Polifenóis no vinho

Os vinhos têm na sua matriz uma elevada quantidade de compostos fenólicos. Este tipo de compostos desenvolve funções organolepticamente marcadas num vinho, mas também funcionam como um conservante natural impedindo a oxidação da bebida. A grande fonte de fenóis no vinho é a uva e as madeiras de estágio. Os fenóis encontrados no vinho dividem-se em flavonoides e não flavonoides. No grupo dos não flavonoides encontramos subgrupos como os ácidos hidroxicinâmicos, ácidos benzoicos, taninos e estilbeno. Na Tabela 1.2 encontram-se representados alguns exemplos dos compostos anteriormente referidos e as suas estruturas. Os ácidos hidroxicinâmicos são os compostos fenólicos com maior incidência no sumo de uva mas em termos de propriedades sensoriais não são muito influentes. Os ácidos benzoicos são também bastante comuns na matriz vinho sobretudo em vinhos novos. Estes ácidos tendem a baixar a sua concentração com o desenvolver do vinho por reações com outros compostos nomeadamente taninos. Os estilbenos são uma classe minoritária existentes na uva mas com grande importância para a planta e posteriormente no vinho a nível da proteção. O estilbeno mais conhecido é o resveratrol e os seus derivados que, não só na planta, mas também no ser humano tem uma função regeneradora e preventiva de doenças cardíacas [5,16,17].

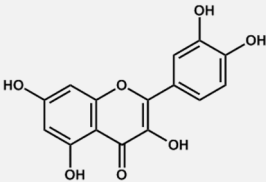
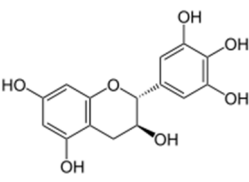
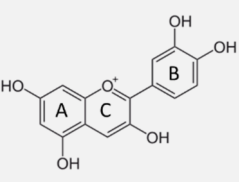
Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

Tabela 1.2 – Exemplos de compostos não-flavonoides no vinho

Nome do Grupo (Composto)	Ácidos hidroxicinâmico (Ácido Caftarico)	Taninos (Castalagina)	Ácidos benzoicos (Ácido benzoico)	Estilbeno (Trans-resveratrol com glicosídeo)
Estrutura				

Pertencentes ao grupo dos flavonoides temos os flavonóis, flavan-3-óis, e as antocianinas (Tabela 1.3). Os flavanóis são os flavonoides mais abundantes nas uvas e vinho. Diferem dos flavonóis por terem o seu anel central totalmente saturado. Ambos os compostos flavanóis e os flavonóis irão interagir com os taninos e formar complexos colorimétricos [16].

Tabela 1.3 - Exemplos de compostos flavonoides no vinho e sistema de anéis dos mesmos

Nome do Grupo (Composto)	Flavonóis (Quercetina)	Flavan-3-óis (Galocatequina)	Antocianinas (Cianidina)
Estrutura			

1.2.3.3.1 *Taninos*

Em termos colorimétricos os compostos com maior interesse são os taninos. Os taninos são um grupo de compostos químicos complexos que surgem na natureza em várias árvores e frutos. No vinho estes compostos provêm da sua interação com madeiras no estágio e do fruto de origem. Os taninos podem ter varias interações com moléculas, como por exemplo, são capazes de interagir com proteínas e sacarídeos e provocar a precipitação das mesmas, o que nas condições organoléticas do vinho se reflete numa atenuação dos seus sabores menos agradáveis. Os taninos naturais ou taninos condensáveis são formados sob controlo enzimático nas sementes da uva e podem ser descolorados ou conter uma coloração avermelhada. Quando se encontram na matriz acídica do vinho sofrem rearranjos para formar moléculas maiores ou menores por oxidação química ou enzimática, alterando a sua coloração que pode variar desde transparente a âmbar. O vinho também pode conter taninos vindos das madeiras, como é o caso dos taninos gálicos e elágicos. Estes taninos em conjunto com os provenientes da uva e as antocianinas são os responsáveis pelas alterações nas cores do vinho durante o envelhecimento, com particular impacto na coloração vermelha. Diferentes tipos de madeira contêm diferentes taninos na sua composição o que no vinho se irá refletir numa resposta diferente consoante a madeira usada mesmo que pertencente à mesma espécie botânica. Devido a este facto há uma grande diversidade de moléculas de taninos pigmentados ou taninos poliméricos que à medida que se formam iniciam um processo de estabilização do vinho e o seu processo de envelhecimento, alterando a sua cor de vermelho para tons acastanhados (vermelhos mais azuis) [5,16,18].

1.2.3.3.2 *Antocianinas*

As antocianinas são responsáveis pela intensidade da cor vermelha e ciano nos vinhos, precursores dos taninos poliméricos e de outros pigmentos com cor formados posteriormente. Estes compostos têm sobretudo origem no bago da uva, particularmente na sua película. A quantidade de antocianinas numa uva é dependente da variedade do fruto e da quantidade de açúcar do mesmo. A cor destes compostos é devida ao sistema π formado pelos dos anéis A e C e também por alguma contribuição

do anel B (Tabela 1.3). Ao analisar um vinho é difícil detetar as antocianinas por si só, sendo apenas possível encontrar traços da sua existência devido à sua instabilidade. Normalmente estes compostos existem conjugados com outros e no caso das antocianinas são geralmente glicosídeos, daí a sua dependência de concentração com os açúcares (Figura 1.10). As antocianinas reagem com os taninos formando derivados mais estáveis e duráveis que as suas formas iniciais num processo que pode demorar meses. São estas reações que irão fazer com que o vinho estabilize [16-18].

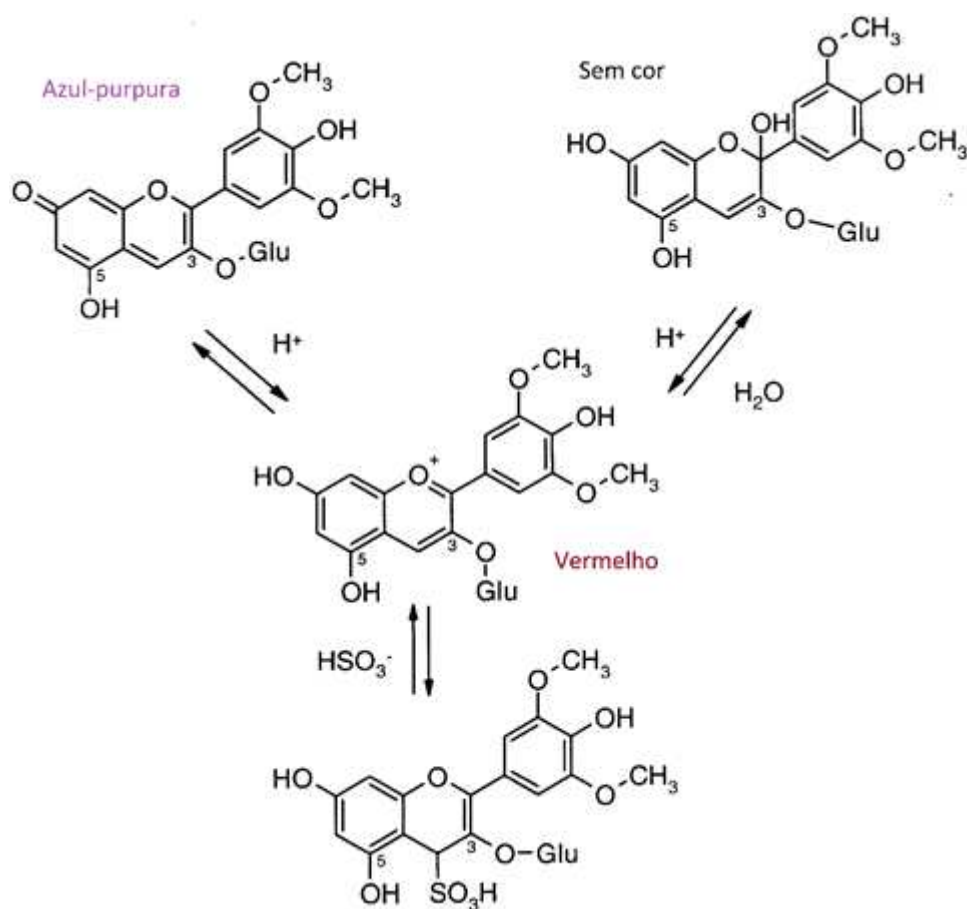


Figura 1.10 – Formas conjugadas das antocianinas existentes nos vinhos e respetivas colorações [16].

1.3 QUÍMICA DOS VINHOS

1.3.1 QUALIDADE E SEGURANÇA

No processo de produção de qualquer artigo para venda ao público é indispensável um controlo de qualidade inerente ao mesmo. No vinho, esse controlo é imprescindível não só por uma questão de segurança pública mas também para garantir as boas condições de todo o processo e assegurar a boa qualidade do produto final. São múltiplos os fatores a inspecionar nesta indústria começando na qualidade e tipo de uva ainda quando está nas propriedades vinícolas até ao engarrafamento e armazenagem. Na maioria das etapas são requeridas análises sensoriais, químicas, físicas e microbianas ao sumo/vinho [3].

O vinho é uma matriz muito complexa e com muitas características químicas associadas fortemente interligadas aos componentes do fruto que lhe dá origem e ao método utilizado para a sua produção, bem como a todas as interações possíveis de ocorrer durante o fabrico e envelhecimento. Estes fatores químicos devem ser controlados e assegurados para garantir a segurança alimentar de um vinho devendo-se encontrar dentro dos parâmetros descritos na Tabela 1.4 para vinhos normais. Todos estes componentes afetam a qualidade sensorial de um vinho e são possíveis reagentes no meio reativo no qual é feita a produção do vinho mas também na sua fase posterior de estágio. Como possíveis intervenientes de uma reação poderão vir a ter participação na estabilidade de um vinho e consequentemente na sua cor [5,19].

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

Tabela 1.4 – Composição do vinho. Principais componentes controlados. (adaptado: Robinon J., 2006 [5])

	Componente	Quantidades (por dm ³)
<i>Gás dissolvido</i>	CO ₂	0,2-0,7 g
	SO ₂ Total	80-200 mg
	SO ₂ Livre	10-50 mg
<i>Substâncias voláteis</i>	Água	700-900 g
	Álcool etílico	8,5-17% (v/v)
	Álcoois superiores	0,15-0,5 g
	Acetaldeído	0,005-0,5 g
	Ésteres	0,5-1,5 g
	Ácido acético	0,3-0,5 g
<i>Substâncias Fixas</i>	Açúcar	0,8-180 g
	Glicerol	5-12 g
	Fenóis	0,4-4 g
	Gomas e pectinas	1-3 g
<i>Ácidos orgânicos</i>	Tartárico	5-10 g
	Málico	0-1 g
	Láctico	0,2-1,2 g
	Sucínico	0,5-1,5 g
	Cítrico	0-0,5 g
<i>Ácidos inorgânicos</i>	Sulfatos	0,1-0,4 g
	Cloretos	0,02-0,25 g
	Fosfatos	0,08-0,5 g
<i>Metais</i>	Potássio	0,7-1,5 g
	Cálcio	0,06-0,9 g
	Cobre	0,0001-0,003 g
	Ferro	0,002-0,005 g
	Chumbo	<0,003 g

1.3.2 ESTUDO DA COR

Em função da sua cor, os vinhos classificam-se genericamente em tintos, brancos e rosados ou rosés. A cor dos vinhos é uma característica sensorial de apreciação imediata. Quando se coloca um vinho num copo para se dar início a uma degustação, antes de ocorrer a percepção das características olfativas e gustativas do mesmo, é feita uma apreciação quase intuitiva da qualidade do vinho através da sua coloração fazendo uso da visão. As características cromáticas são indicadores de qualidade em quase todos os alimentos mas, particularmente no vinho podem ser indicativas de atributos como a idade, evolução e grau de oxidação, tudo por avaliação subjetiva apenas. Neste tipo de bebidas, a sua coloração é uma das principais características organoléticas a avaliar e depende de parâmetros como a composição da uva, técnica de vinificação e de todas as variáveis do envelhecimento do vinho. As mudanças mais rápidas e marcantes de um vinho ocorrem durante o seu primeiro ano. Com o passar do tempo as alterações na cor irão tender a ser cada vez menos notáveis devido à diminuição das reações ocorridas. Esta característica sensorial está por isso, intimamente interligada com os compostos presentes no vinho, particularmente com os compostos polifenólicos. São estes compostos que após inúmeras reações estabilizarão um vinho e subsequentemente a sua tonalidade e intensidade de cor. Com a cor está associada às características químicas dos vinhos, torna-se um descritor tão importante e por isso existe a necessidade de a descrever através de um método de forma exata e universal e não apenas por um método tão subjetivo e dependente do meio envolvente como é a visão humana [19,20].

1.3.2.1 CIELAB

A cor é uma sensação que nós percebemos visualmente através de um órgão como a reflexão da luz num objeto. O vinho como “objeto” irá refletir parte da luz sobre ele incidente mas também irá absorver outra parte que será as suas cores complementares. A luz refletida é a que é perceptível aos olhos do observador [21].

As características colorimétricas são uma das propriedades que distinguem um vinho tinto de um vinho branco. Regra geral, esta distinção está inerente à avaliação

primária de um ser humano a partir dos seus sentidos primários mas também se pode comprovar a mesma por estudos laboratoriais mais precisos qualitativamente e quantitativamente. O estudo da cor nos vinhos é feito com recurso ao uso da espectrofotometria de UV-Visível por ser um método rápido, simples, não destrutivo e sem grande necessidade de equipamento ou materiais extras para a sua execução. Utilizando este método é entre os valores de comprimento de onda de 400 nm e 650 nm que é possível a distinção mais explícita entre os dois tipos de vinhos (branco e tinto), como é possível observar na Figura 1.11 [20,22].

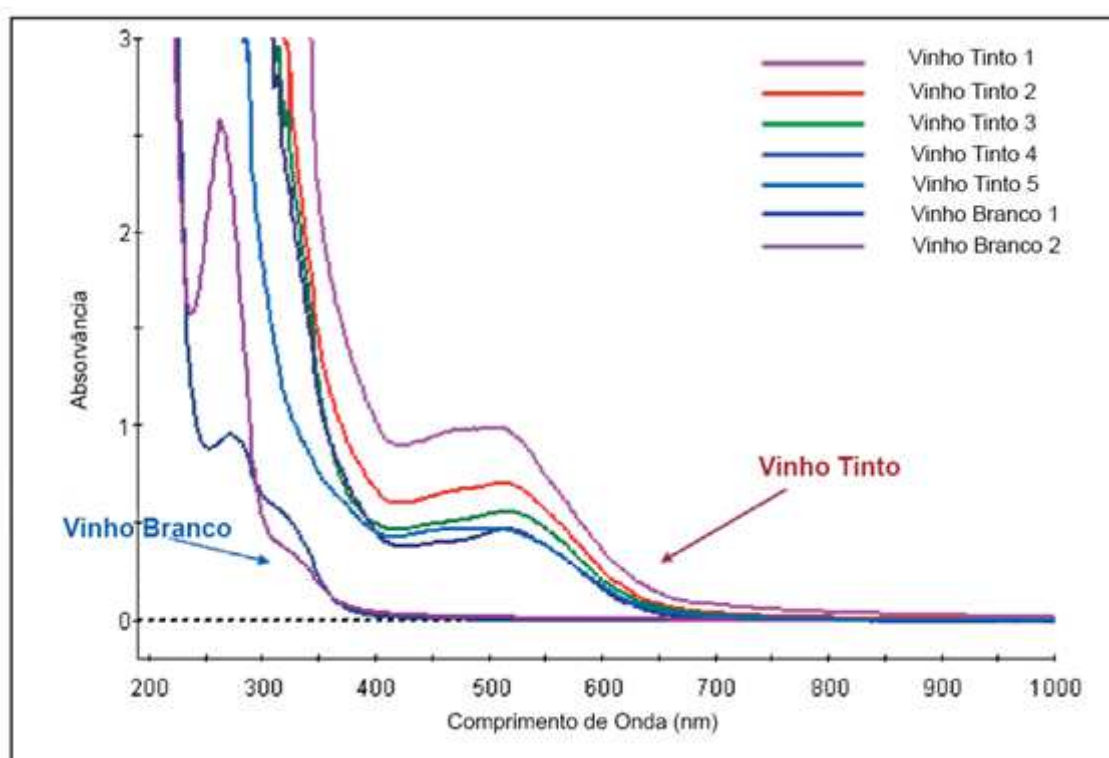


Figura 1.11 – Espectro de UV-Visível de amostras de vinho tinto e branco (adaptado de: Brain, G., 2009 [20])

Para a descrição da cor de um vinho não basta ter só o varrimento do espectro visível do mesmo. É necessário uma medida fixa para perceber as alterações entre eles que vai muito além das variações das absorvâncias. Teoricamente basta apenas ter conhecimento dos valores correspondentes às absorvâncias aos comprimentos de onda de 420 nm, 520 nm e 620 nm que representam as componentes amarela, vermelha e azul, respetivamente. No entanto, com esta abordagem todas as restantes alterações no espectro são negligenciadas. Por esse motivo, mais recentemente foi

introduzido o sistema CIELab na descrição da cor dos vinhos com o uso de todo o espectro visível entre os comprimentos de onda de 380 nm e 780 nm. Este sistema é atualmente o mais utilizado e aconselhado pela OIV sendo alvo de estudo de diversos autores atualmente [21,23].

Este sistema CIELab aconselhado assenta os seus princípios, tal como os anteriormente utilizados, no estudo espectrofotométrico do vinho mas com a diferença que considera todo o espectro da amostra. O espaço CIELab faz uso das coordenadas tridimensionais espaciais para a descrição das componentes cromáticas da amostra por tratamento matemático (Figura 1.12) [21].

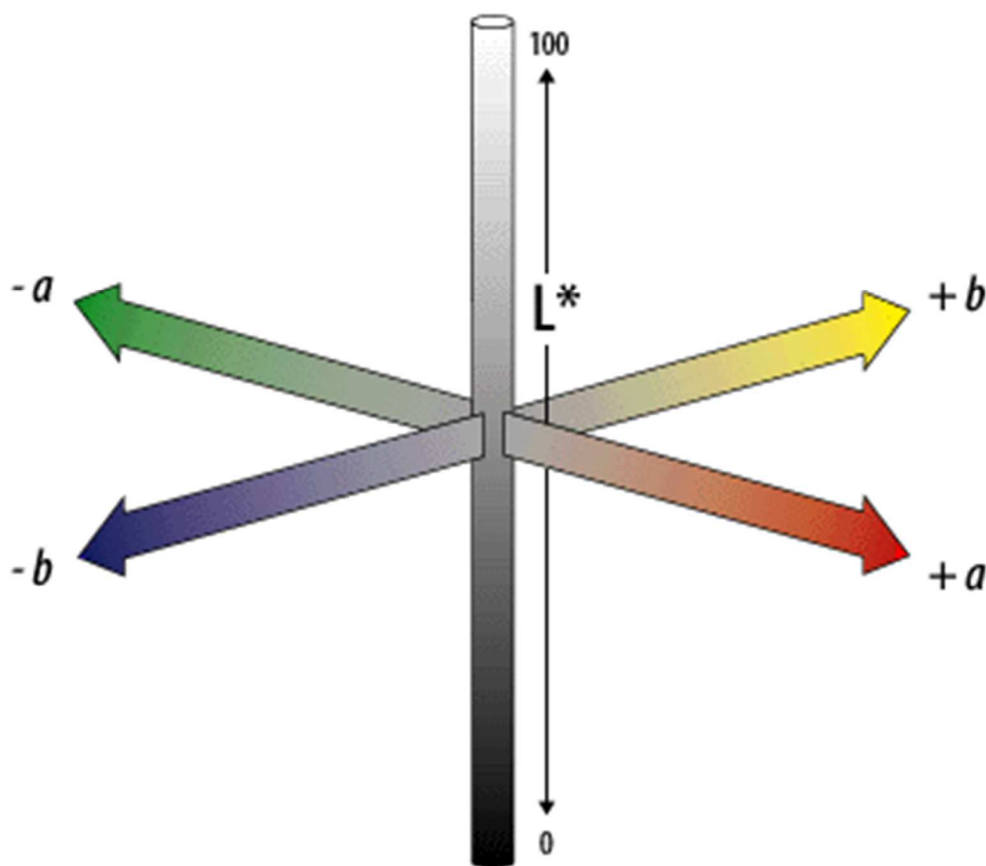


Figura 1.12 – Diagrama colorimétrico (adaptado de: OIV, 2006 [21])

Em termos matemáticos, as coordenadas X, Y e Z de uma cor são obtidos pelas equações 1.1, 1.2 e 1.3 que são resultado de uma integração da função resultante da curva descritora do espectro obtido experimentalmente multiplicada pela curva descritora de um espectro padrão e K (equação 1.4) é um coeficiente dos somatórios dessas funções, não sendo possível o cálculo das componentes L*, a* e b* por integração direta. Estes dados devem ser sempre experimentais mas a curva do espectro padrão utilizado por norma é cedido pela OIV no método OIV-MA-AS2-11 e encontra-se sobre a forma de intervalo de modo a facilitar o tratamento matemático [21].

$$X = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{X}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \quad \text{Equação 1.1}$$

$$Y = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \quad \text{Equação 1.2}$$

$$Z = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Z}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \quad \text{Equação 1.3}$$

$$K = 100 / \sum_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)} \quad \text{Equação 1.4}$$

Nota: T é a transmitância lida numa célula de 1cm; Δ é o intervalo de λ considerado; S é um coeficiente relativo à função padrão e o iluminante (valor cedido pela OIV); e X₁₀, Y₁₀ e Z₁₀ são valores da função padrão (valores cedidos pela OIV) [21]

A partir de X, Y e Z são calculados L*, a* e b* por transformação matemática ilustrada na Figura 1.13.

$$\begin{aligned} L^* &= 116 (Y / Y_n)^{1/3} - 16 \\ a^* &= 500 [f(X / X_n) - f(Y / Y_n)] \\ b^* &= 200 [f(Y / Y_n) - f(Z / Z_n)] \end{aligned}$$

Onde : $X_n = 94.825$; $Y_n = 100$; $Z_n = 107.381$
Fornecidos pela OIV

Figura 1.13 – Expressões matemáticas para o cálculo de L^ , a^* e b^* [21]*

É com base nos valores obtidos destas equações que é possível a descrição da cor de um vinho através das suas características cromáticas ou coordenadas cromáticas onde L^* é descrito como luminosidade e pode variar de 0 (opaco) a 100 (transparente), a^* que representa a coloração vermelha ($a^* > 0$) e verde ($a^* < 0$) e b^* que representa o amarelo quando b^* maior que 0 e azul quando b^* menor que 0. Existem ainda outros descritores como o croma, tonalidade, diferença entre tons e diferença cromática entre duas amostras, mas todas elas estão dependentes das coordenadas cromáticas base [21-23].

1.4 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo a apreciação da influência que os polifenóis (PT) cedidos pelas madeiras têm na cor do vinho. Para tal, faz-se o estudo evolutivo do teor de polifenóis e de características colorimétricas de soluções hidroalcoólicas miméticas do vinho em teor alcoólico e em pH na presença de madeiras de diferentes espécies botânicas com vários graus de queima (não queimado, sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte) e com dois tipos de morfologia, aparas e dominós. Estudam-se ainda os polifenóis e a cor de dois tipos de vinhos: branco e tinto, também na presença de todas as madeiras e queimas referidas mas apenas com a morfologia de aparas, os quais foram comparados com as soluções miméticas com o intuito de perceber as alterações provocadas nos mesmos. Faz-se ainda uma breve avaliação de alguns voláteis por cromatografia gasosa hifenada a

espectrometria de massa, após extracção por headspace por microextracção em fase sólida.

2 Procedimento Experimental

2.1 MATERIAL UTILIZADO

2.1.1 REAGENTES

Tabela 2.1 - Resumo dos reagentes utilizados

Reagente	Marca	Pureza
Ácido sulfúrico	Merck	95-97%
Etanol absoluto	AnalaR NORMAPUR VWR chemicals	99,8%
L (+) - Ácido tartárico	Merck	99,5%
Reagente de Folin–Ciocalteu	AnalaR NORMAPUR VWR chemicals	-
Carbonato de sódio	AnalaR NORMAPUR VWR chemicals	-
Metanol	Merck	99,9%

2.1.2 EQUIPAMENTOS

Tabela 2.2 - Descrição dos equipamentos utilizados no trabalho experimental

Equipamento	Informações
Balança	METTLER TOLEDO – monobloc PB3002 com 0,01g de precisão
Centrifuga	HERMLE – Z23M com 24 slots com força relative de centrifuga 21,380 x g
Espectrofotómetro UV-Vis	LANGE – DR5000 com lâmpada de Tugsténio (visível) e de Deutério (UV) e resolução de 0,1 mm
Aparelho de pH	Crison, pHmeter Basic 20
Colorímetro 1	MINOLTA Chroma CR-300
Colorímetro 2	KONIKA MINOLTA CR-410c
Cromatografia Gasosa acoplado a espetrometria de massa (GC/MS)	BRUKER – SCION SQ 456 equipado com injetor automático CP-8410
Coluna (Cromatografia Gasosa)	Zebron – ZB-5MS com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura de filme (5% Fenil-arileno e 95% Dimetilpolisiloxano)
Fibra de SPME	SUPELCO 57329-U de Divinilbenzeno/ carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) com 1 cm
Cartuchos para extração em fase sólida	WATER Sep-Pak c18 de cartucho clássico com fase de sílica ligada, partículas entre os 55 e os 105 µm e 125 Å de tamanho de poros

2.2 MATÉRIA-PRIMA

2.2.1 MADEIRAS

Para realização deste trabalho foram adquiridos quatro tipos de espécies botânicas: Acácia de origem desconhecida, Cerejeira da espécie *Prunus cerasus*, Castanheiro da espécie *Castanea sativa* e o tradicional Carvalho Nacional da espécie *Quercus robur* todas elas com vários graus de queima que variam desde não queimado sem queima (SQ), à queima ligeira (QL, 2 horas a 160°C), à queima média (QM, 2 horas a 200°C) e por fim queima forte (QF, 2 horas a 240°C) e dois tipos de alternativos: aparas e dominós (Tabela 2.1). Todas as madeiras foram sujeitas a uma secagem ao ar livre que durou 25 meses para acácia e cerejeira, 22 meses para o castanheiro e 32 meses para o carvalho [24].

Tabela 2.3 - Fornecedor e lotes das madeiras usadas

Tipo de madeira		Acácia	Cerejeira	Castanheiro	Carvalho
Aparas	Lote	ACO300/11	CEO312/11	CASPO322/11	PO331/11
	Empresa fornecedora	Tonnellerie J.M. Gonçalves Cantara 5225-032 Palaçoulo Portugal			
Dominós	Lote	Sem Informação			
	Empresa	Tonnellerie J.M. Gonçalves Cantara 5225-032 Palaçoulo Portugal			

2.2.2 VINHOS

São alvo de estudo neste trabalho dois tipos de vinho, um vinho branco e um vinho tinto, os quais foram expostos de duas maneiras diferentes às madeiras anteriormente referidas. Os vinhos usados como amostras foram produzidos, tratados e/ou engarrafados pela Universidade de Évora - pólo da Mitra na adega experimental pertencente ao laboratório de enologia onde se pode encontrar toda a informação descritiva destes mesmos vinhos.

Tabela 2.4 – Informações dos vinhos usados na experiência, propriedades relevantes e fase de emprego das aparas

<i>Vinho</i>	<i>Casta</i>	<i>Ano</i>	<i>Fase de utilização das aparas de madeira</i>
<i>Branco</i>	Mistura	2013	Fermentação
<i>Tinto</i>	Aragonês	2014	Envelhecimento

2.3 PREPARAÇÃO DE AMOSTRA

Os alvos em estudo podem dividir-se em duas categorias diferentes, as soluções hidroalcoólicas (SH) e os vinhos (V). As soluções hidroalcoólicas são utilizadas com bases miméticas do vinho no seu teor alcoólico que deve rondar os 12%-14% (v/v) e no pH que se deve estabelecer entre 2,9 e 4,2, para que a infusão das madeiras, quer sejam elas aparas ou dominós, ocorram em ambientes semelhantes ao da bebida alcoólica quanto a estes aspetos. No entanto, a razão utilizada de madeira/volume de solução hidroalcoólica é muito superior à de madeira/vinho normalmente utilizada comercialmente que deve rondar os 2 g de madeira/L de vinho. A decisão de aumento da concentração de madeira foi tomada com vista a aumentar a quantidade e a velocidade de migração dos compostos para que a experiência não fosse demasiado morosa, mas também, para garantir um aumento na sua deteção caso existam compostos de interesse a identificar [5,25].

Os vinhos estudados no presente trabalho foram ambos expostos unicamente a madeiras das espécies anteriormente referidas sob a forma de aparas, por a migração dos compostos com este formato ser feita mais rapidamente. Em qualquer um dos vinhos, tinto ou branco, foram feitas amostras com todas as madeiras e todos os graus de queima, tal como nas SH. Em ambos os vinhos foram ainda feitas amostras, designadas na experiência como ensaios em branco/controlo, nos quais não foram colocadas quaisquer madeiras. Estas amostras foram sujeitas ao mesmo ambiente que os vinhos com madeiras, funcionando assim como testemunha durante o trabalho experimental.

2.3.1 SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS COM DOMINÓS

A preparação de amostras de soluções hidroalcoólicas contendo dominós (SH-Dominó) não foi feita neste trabalho. Foram estudadas SH-Dominó previamente preparadas num trabalho anterior de uma tese de mestrado da aluna Sofia Valdantas da Universidade de Évora intitulada “Capacidade antioxidante e compostos fenólicos

de madeiras com uso enológico: influência do grau de queima”, no ano 2014 (Figura 2.1).

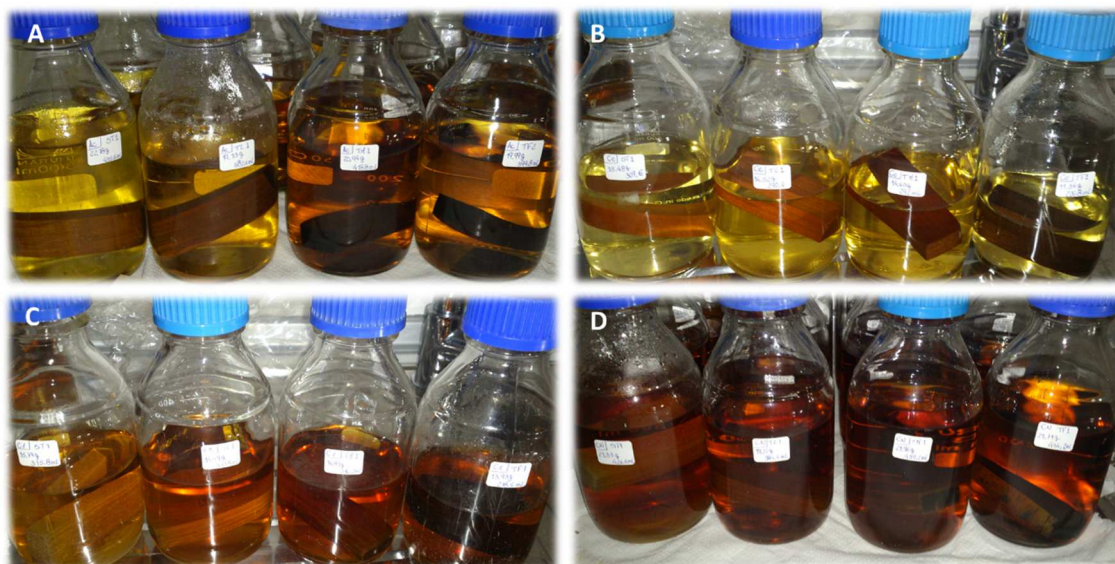


Figura 2.1 – Soluções hidroalcoólicas com dominós, (A)-acácia; (B)-Cerejeira; (C)-Castanheiro;(D)-Carvalho, Da esquerda para a direita em A,B,C e D estão as madeiras sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte,

Fez-se a recolha de amostras das soluções já referidas, que se encontravam há mais de 9 meses em contacto com os dominós de madeira, retirando-se 9 mL de cada amostra e distribuindo-os por *Eppendorfs* com 1,5 mL de volume. Uma vez que se estudaram soluções hidroalcoólicas com quatro tipos de madeira cada uma com quatro tipos de queimas diferentes e feitas todas em duplicado, obtiveram-se 32 amostras distintas na sua totalidade. As amostras antes de serem sujeitas a qualquer tipo de análise foram centrifugadas usando a centrífuga HERMLE – Z23M a 10000 RPM por dez minutos para que pequenas impurezas existentes no meio precipitem num *pellet* e não se tornem interferentes em posteriores análises feitas às mesmas.

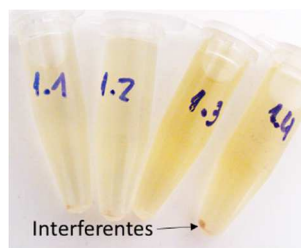


Figura 2.2 – Eppendorfs com vinho branco após centrifugação.

Neste caso apenas foi feita uma recolha única das amostras uma vez que não se pretende fazer um estudo evolutivo com as SH-Dominós. As amostras serão usadas como termo de comparação para com as soluções hidroalcoólicas com aparas, representando um estado final ou muito avançado em termos de estabilização da cor e conteúdo em polifenóis capaz de ser cedido pela madeira com morfologia em dominós.

2.3.2 SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS COM APARAS

Nas soluções hidroalcoólicas com aparas (SH-apara) começou por se preparar uma solução mãe com 10 L de volume total de modo a que todas as amostras tivessem a mesma base tornado a amostragem o mais homogénea possível. A solução preparada contém 88% (v/v) de água destilada, 12% (v/v) de etanol e um pH aproximado de 3,2, que foi ajustado depois da mistura feita com recurso a ácido tartárico e com o auxílio de um equipamento pHmeter Crison para medição do mesmo.

Utilizaram-se as relações volumétricas referidas para que fosse possível o estudo dos componentes presentes nas madeiras que venham a ser transferidos para o meio, no que será uma matriz mimética do vinho, ou seja, estas soluções hidroalcoólicas irão funcionar como uma base de vinho sem o *background* vindo do processo de fabrico do mesmo, o que possibilitará o estudo apenas das características cedidas pelas madeiras permitindo ter uma análise unicamente correspondente aos compostos que provocarão alterações nas cor [24].

Começou-se por pesar cerca de 10 g de madeira para diversos erlenmeyeres de 250 mL com tampa de rosca (Figura 2.3). Foram usadas os quatro tipos espécies

botânicas com todas as queimas já referidas e feitos duplicados das mesmas, ficando-se com um total de 32 amostras de soluções hidroalcoólicas contendo aparas. De seguida adicionou-se às madeiras 200 mL de solução mãe, obtendo-se soluções com uma concentração aproximada de 50 g de madeiras/L de solução à semelhança da concentração usada nas soluções hidroalcoólicas de dominós. Deixaram-se as SH-Aparas ao abrigo da luz direta por 11 dias. Durante esse período de tempo recolheram-se amostras apenas do líquido/sobrenadante no segundo, quarto, sétimo (apenas das SH-Aparas de carvalho nacional e de castanheiro), nono e décimo primeiro dia. Em qualquer um dos dias de recolha foi retirado de cada amostra um volume de 9 mL divididos por *ependorfs* de 1,5 mL. À semelhança do procedimento efetuado com as amostras de SH-Dominó, também estas, foram centrifugadas a 10000 RPM por 10 minutos usando a centrífuga HERMLE, para proceder à remoção de possíveis sedimentos que fossem interferentes às futuras leituras.



Figura 2.3 – Exemplo de preparação das soluções hidroalcoólicas com duplicados, Erlenmeyers de 250 mL com 10g de madeira de acácia sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte (da esquerda para a direita),

As amostras de soluções hidroalcoólicas que contêm dominós e as que contêm aparas, após a sua centrifugação e posterior utilização, são armazenadas em frascos de plástico de 20 mL com tampa de rosca e refrigeradas de modo a conservar o máximo

possível das suas propriedades, resguardando-as de possíveis deteriorações oxidativas que possam vir a acontecer.

2.3.3 VINHOS

O vinho branco (Vb) usado no estudo trata-se de um vinho datado do ano de 2013, feito na Universidade de Évora para um trabalho experimental de mestrado em Viticultura e Enologia do aluno Bruno Soares intitulado de “Compostos fenólicos em aparas de madeira para uso enológico” do ano de 2011 pela Universidade de Évora (Figura 2.4). O vinho foi estudado neste trabalho experimental por na sua fase de fermentação ter sido exposto às madeiras de interesse numa concentração de 2 g de madeira/L de vinho. Para o estudo utilizaram-se amostras de vinho com os quatro tipos de madeira, com diferentes espécies botânicas e os seus quatro graus de queima - sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte. O estudo foi realizado em duplicado. Foi ainda preparada uma amostra testemunha também ela em duplicado, dando assim origem ao total de 34 amostras. Ao contrário das soluções hidroalcoólicas, nas quais se pretende fazer um estudo evolutivo, as amostras de vinho apenas são recolhidas num único instante, uma vez que a recolha em vários momentos da sua fase de fermentação poderia interferir com a produção e qualidade do mesmo.



Figura 2.4 – Amostras de vinho branco, Vinho com castanheiro sem queima, queima ligeira, queima média e queima forte (da esquerda para a direita),

O vinho tinto (Vt) teve um procedimento diferente do vinho branco. O vinho tinto estudado é datado do ano de 2014 e foi concebido pelo técnico da adega experimental da Universidade de Évora – polo da Mitra. Este vinho não foi exposto a qualquer tipo de madeira em todo o seu processo de produção, ao contrário do vinho branco, tendo apenas entrado em contacto com as mesmas após a fermentação maloláctica.

Começou-se por encher 34 frascos de vidro escurecido de 250 mL, com o mesmo volume de vinho tinto, de modo a que quando estes se encontrassem fechados houvesse o menor contacto possível com o ar, evitando ao máximo a oxidação da própria bebida. De seguida pesaram-se 1,5 g de madeira e adicionou-se ao vinho obtendo-se uma concentração de 6 g/L. Os frascos foram agitados e deixados em repouso por 13 dias ao abrigo de luz direta, ao final dos quais foi feita a recolha das amostras. Fez-se recurso de uma concentração superior à usada no vinho branco para que a superfície de contacto da madeira com o vinho fosse maior e assim possibilitasse o aumento da extração dos compostos provenientes da madeira. Foi gerada uma amostragem com todas as madeiras e os seus respetivos graus de queima, bem como uma amostra testemunha. A testemunha é sujeita a todos os procedimentos realizados aos vinhos,

à excepção do contacto com os alternativos, permitirá saber qual é o ponto de partida dos vinhos e as características que os mesmos adquiriram. Sendo assim, obtêm-se um total de 34 amostras uma vez que se fizeram duplicados de todos os vinhos com cada tipo de madeira. À semelhança do que foi feito com os vinhos brancos, nas amostras de vinho tinto também foi feita uma única recolha para não perturbar a razão madeira/vinho e evitar ao máximo o contacto com agentes oxidantes.

Antes da preparação de amostra, ambos os vinhos foram sujeitos a um teste de degustação, para garantir que os mesmos não se encontravam demasiado oxidados. Observou-se que os vinhos brancos, por estarem armazenados há algum tempo em condições não ideais, revelaram alguns sinais de oxidação.

2.4 PARTE EXPERIMENTAL

2.4.1 CARACTERÍSTICAS COLORIMÉTRICAS - ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

O procedimento de estudo das características cromáticas dos vinhos e das soluções hidroalcoólicas utilizado no presente trabalho experimental foi baseado no método de 2006 publicado pela OIV (Organização Internacional do Vinho) com o código OIV-MA-AS2-11, aconselhado para a caracterização dos parâmetros cromáticos dos vinhos de acordo com o sistema CIELab. Não havendo métodos de estudo desenvolvidos especificamente para soluções hidroalcoólicas e por uma questão de coerência e fiabilidade dos dados, todas as amostras foram tratadas segundo o método OIV-MA-AS2-11 para que fosse possível comparar resultados obtidos entre as soluções hidroalcoólicas e os vinhos.

Após a centrifugação das amostras, procedeu-se à leitura num espectrofotómetro LANGE – DR5000 usando uma amplitude espectral entre os 380 nm e os 750 nm com um intervalo de 5 nm entre leituras. O tamanho da célula a usar varia consoante a amostra em causa, podendo ir dos 10 ao 1 mm de espessura. Esta deve ser escolhida tendo em conta a coloração da amostra e de modo a que o espectro obtido não apresente saturação, sendo aconselhada a utilização da cuvete de 10 mm para vinhos branco e de 1 mm para vinhos tintos. Neste trabalho foi usada a cuvete de 10 mm para a maioria das soluções hidroalcoólicas e para os vinhos brancos e a cuvete de 5 mm para vinhos tintos e soluções hidroalcoólicas mais pigmentadas. É ainda de salientar que todas as medições foram feitas em duplicados [21].

Com os dados dos espectros recolhidos, é possível o cálculo das características cromáticas das amostras (L^* , a^* e b^*) aplicando o procedimento proposto pela OIV no documento OIV-MA-AS2-11. Para os cálculos são apenas considerados os valores de 10 em 10 nm apesar de serem feitas recolhas a cada 5 nm.

2.4.2 DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

Para a determinação dos polifenóis totais foi usada uma técnica descrita por Singleton *et al*, (1965) e no método OIV-MA-BS-19 aconselhado pela OIV para determinação do conteúdo fenólico de bebidas vitivinícolas. Para a sua execução é necessário uma preparação de amostras que diferem entre os tipos de amostras tratados neste trabalho. Como tal será descrita a preparação de amostras individualmente para as soluções hidroalcoólicas, para os vinhos tintos e para os vinhos brancos [26].

- **Preparação para soluções Hidroalcoólicas**

Para balões de 10 mL pipetam-se, recorrendo ao uso de uma micropipeta, 500 µL das amostras já centrifugadas e perfaz-se com água destilada, preparando assim soluções iniciais com uma razão de 1:20. Retira-se 1 mL de cada solução inicial para balões de 20 mL e adiciona-se 5 mL de água destilada.

- **Preparação para vinhos tintos**

Pipeta-se 1 mL de cada vinho tinto usando uma pipeta graduada de vidro para balões de 10 mL de modo a obter-se uma diluição do vinho de 1:10 em água destilada. De seguida, em balões volumétricos de 20 mL, é adicionado 1 mL de cada vinho diluído juntamente com 5 mL de água destilada.

- **Preparação para vinhos brancos**

Depois das amostras de vinho branco centrifugadas colocam-se 5 mL das mesmas num balão de 10 mL e perfaz-se com uma solução aquosa de ácido sulfúrico com concentração de 1N, obtendo-se uma diluição de 1:2 de vinho branco. O ácido sulfúrico tem como função a hidrólise dos glicosídeos. Para pré-concentrar e extrair os compostos de interesse usa-se a técnica de extração em fase sólida (SPE). Nesta fase de preparação de amostra recorre-se ao uso de SEP-PAKs, sendo necessário proceder à prévia ativação da fase sólida contida nos sep-pak's e para isso usaram-se seringas graduadas para medição e para ajudar à eluição dos componentes líquidos através do enchimento. Para proceder à ativação fez-se passar 2 mL de metanol

seguidos de 5 mL de uma solução aquosa de ácido sulfúrico com concentração de 0,1 N. Depois de se ter ativo o sep-pak é-lhe adsorvido 1 mL da solução de vinho branco diluído previamente preparada e que, de seguida é lavada com duas vezes 2 mL de solução de ácido sulfúrico 1N. Coloca-se o sep-pak no topo de um balão volumétrico de 20 mL e eluem-se os compostos fenólicos adsorvidos com 2 mL de metanol seguidos de 5 mL de água. É ainda de ressaltar que, antes da análise dos polifenóis totais no espectrofotómetro, as soluções que contêm vinho branco foram centrifugadas por dez minutos a 10000 RPM na centrífuga HERMLE e apenas o seu sobrenadante foi colocado na célula de leitura.

- **Procedimento comum a todas as amostras**

A cada amostra já preparada é adicionado 5 mL de água e 1mL de Reagente de Folin–Ciocalteu. Aguarda-se entre três a quatro minutos e junta-se 4 mL de uma solução aquosa com 10% de bicarbonato de sódio que foi preparada num balão de 100 mL onde se adicionou 10g de NaHCO_3 e água destilada. Perfaz-se a solução com água destilada, agita-se bem e espera-se 90 minutos. Decorrido esse tempo, a solução deve apresentar uma tonalidade azul forte, como representado na Figura 2.5. Quando decorrido os 90 minutos é determinada a absorvância das soluções num espectrofotómetro UV-Vis ao comprimento de onda de 760 nm numa célula com 1 cm de percurso ótico [27].



Figura 2.5 – Ensaio de determinação de polifenóis totais com SH-acácia.

Estas análises são feitas e lidas em duplicado. Foi ainda feito um ensaio em branco, seguindo o mesmo procedimento para todos os tipos de amostra mas adicionando ao balão 1 mL de água destilada em lugar das amostras.

Para o cálculo do teor em Polifenóis totais foi usada a Equação 2.1 que relaciona a absorvância lida com a quantidade de equivalentes de ácido gálico existente (Figura 2.6).

$$PT \text{ (mg de ácido gálico/dm}^3\text{)} = 196,8 \times Abs_{760 \text{ nm}} \times D$$

Equação 2.1 - Cálculo dos Polifenóis totais (onde PT = polifenóis totais; D = fator de diluição; Abs_{760 nm} = absorvância lida ao comprimento de onda de 760 nm)

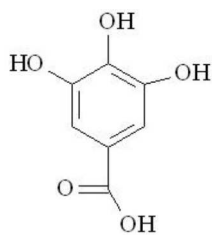


Figura 2.6 – Estrutura química do ácido gálico

2.4.3 CARACTERÍSTICAS COLORIMÉTRICAS - COLORIMETRIA

O estudo da cor dos vinhos e das soluções hidroalcoólicas por colorimetria foi feito para comparar com o método de espectrofotometria, mais usado e aconselhado para o vinho, uma vez que ambos fazem uso do sistema CIELab para descrição de características cromáticas. O colorímetro, em geral, é mais indicado para descrever cores opacas, como superfícies, mas tem a capacidade de obter medições em líquidos. Para este ensaio foram usadas duas técnicas envolvendo cada qual um colorímetro distinto.

Técnica 1

No primeiro ensaio de colorimetria o equipamento usado foi um colorímetro MINOLTA Chroma CR-300 (Figura 2.7) que, ao contrário do utilizado na técnica 2, não tem tubo de proteção para a luz o que lhe permite um contacto direto com as amostras. Como o aparelho tem características diferentes, o suporte sólido usado para as leituras teve de ser também diferente. Como as amostras se encontram no estado líquido e são translúcidas ou semi-translúcidas foi necessário construir um suporte próprio. Para a conceção do suporte começou-se por cortar um frasco de vidro com cerca de dois centímetros de diâmetro até se obter com apenas dois centímetros de altura, conseguindo-se um recipiente parecido a um copo pequeno. De seguida numa placa de esferovite foi escavado um buraco aproximadamente com as dimensões do recipiente de vidro, para que a posição deste fosse o mais estanque possível entre aquisições de dados e para que o fundo de todas as leituras fosse o mesmo não havendo alterações na luminosidade (Figura 2.8). Por cima desta placa de esferovite foi colocada uma outra, com um orifício para encaixe da cabeça de leitura do colorímetro, de modo a que, a ótica de leitura se encontre centrada com o recipiente de vidro que contém as amostras. Deve-se imergir a ótica do aparelho na amostra de modo a garantir que nenhuma luz exterior se torne interferente à leitura, criando um ambiente escuro o mais estanque possível [28].



Figura 2.7 – Equipamento utilizado para a execução da técnica 1 de colorimetria. (A)- MINOLTA Chroma CR-300;(B)-cabeça de leitura

Para dar início às leituras começou-se por calibrar o aparelho recorrendo à placa de calibração do mesmo. Esta placa é uma superfície branca com valores de L^* , a^* e b^* conhecidos e única por cabeça de medição. Ao carregar no modo de calibração do aparelho e dando início à mesma, são feitos três disparos e o equipamento assume que a leitura de L^* , a^* e b^* obtida corresponde aos mesmos valores da placa de calibração. É a partir destes valores que todas as seguintes leituras são calculadas e, como tal, é importante que a calibração seja rigorosa para evitar erros na leitura, certificando-se sempre que a ótica da cabeça de calibração se encontra totalmente em contacto com a placa registando apenas os seus valores. Derivado do equipamento já ser um pouco mais antigo, por vezes, este pode descalibrar ao longo das leituras. Para contornar esse problema foram feitas calibrações por cada série de 8 amostras analisadas, o que corresponde a 16 leituras feitas, pois a análise foi feita em duplicado. Depois da preparação do aparelho, a amostra a ser lida é colocada no recipiente de vidro, tapada com a placa de esferovite e só então feitas as leituras (Figura 2.8). Após a aquisição dos dados para um suporte informático a amostra é recolhida para o seu frasco de origem e armazenada. Como o recipiente de vidro deve ser o mesmo em todas as leituras, este foi convenientemente lavado com água e seco e a ótica do colorímetro limpa entre cada amostra.

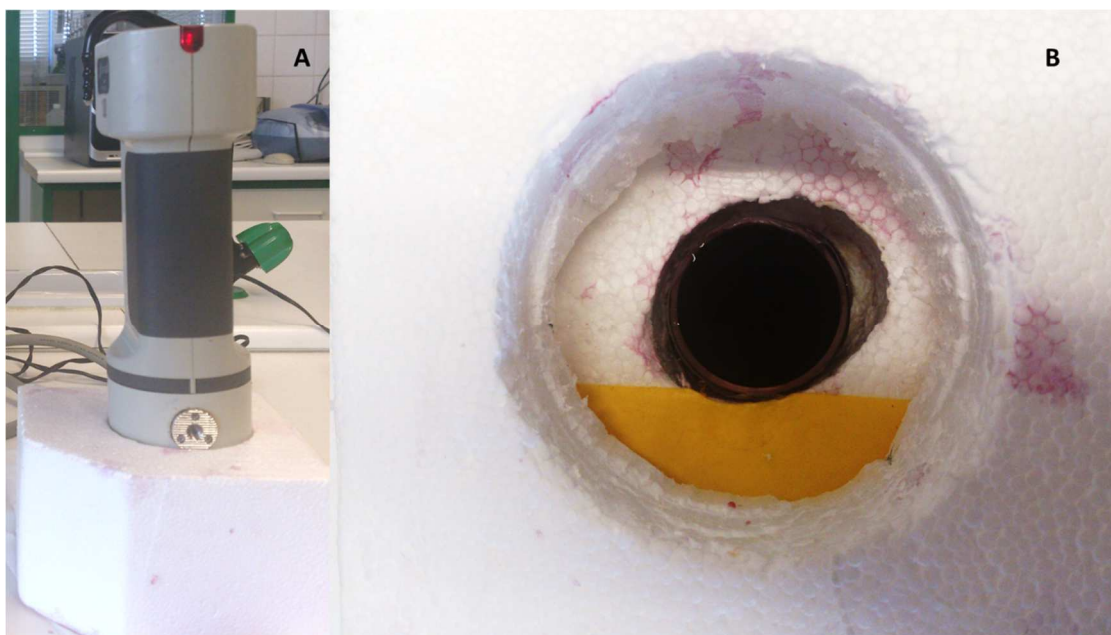


Figura 2.8 – Suporte para leitura de amostras (técnica1). (A) – Posição para cabeça de leitura; (B)- Cavidade de esferovite com recipiente e amostra.

Técnica 2

Para os segundos ensaios de colorimetria foi usado um equipamento KONIKA MINOLTA CR-410c (Figura 2.9) que se encontrava equipado com um tubo protetor para a luz. Devido à natureza das amostras foi necessário usar um suporte sólido para as leituras, neste caso, utilizou-se uma placa de petri plástica e transparente com 5,5 centímetros de diâmetro que ficasse assente sobre o tubo [28].



Figura 2.9 - Equipamento utilizado para a execução da técnica 2 de colorimetria

Para dar início às leituras é necessário fazer a calibração do aparelho que é em tudo semelhante à feita na técnica 1. No caso deste aparelho, como tem o tubo de proteção, não é possível que a ótica se encontre diretamente com a placa mas ao colocar o aparelho sob a placa com toda a área circular do tubo assente na mesma garante-se que a leitura é unicamente correspondente aos valores da placa.

Na placa de Petri são colocadas as amostras de modo uniforme com o equipamento calibrado e pronto a funcionar dando-se início às leituras colocando o suporte da amostra sobre o tubo de proteção como está representado na Figura 2.10. O aparelho usado nesta técnica efectua três disparos consecutivos que dão origem a uma leitura. Depois da leitura mais os duplicados realizados, os dados são adquiridos e as amostras são novamente recolhidas para os seus frascos de origem. Como é conveniente que o suporte de leitura seja sempre o mesmo, para garantir confiança nos dados recolhidos, a placa de *petri* é limpa com água e seca logo em seguida.

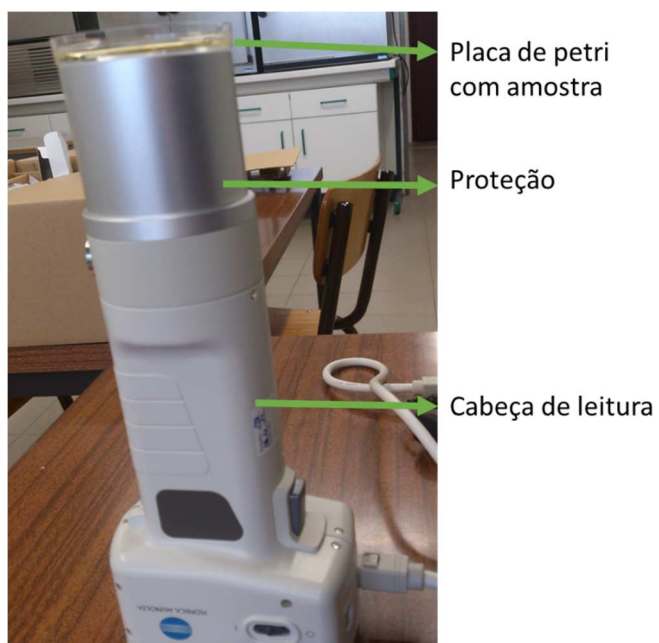


Figura 2.10 – Representação do procedimento adotado para leitura das amostras na técnica 2 de colorimetria

2.4.4 COMPOSIÇÃO VOLÁTIL

Para a análise dos componentes voláteis que migraram das madeiras para os vinhos e para as soluções hidroalcoólicas recorreu-se à técnica de análise de cromatografia gasosa. Devido à grande quantidade de amostras optou-se por se fazer apenas a análise dos vinhos brancos e tintos, bem como das suas testemunhas e das soluções hidroalcoólicas com aparas recolhidas no dia 2 por ser o primeiro dia de recolha e do dia 9 no qual as soluções já não apresentavam grandes variações em termos do seu conteúdo em polifenólicos totais.

Para preparação das amostras foi adotado um procedimento já anteriormente estudado por Rocha *et.al* (2001) e adaptado a este trabalho experimental onde se optou por colocar as amostras em frascos de 20 mL com tampa metálica e septo 8 mL de amostra e 1,6 g de NaCl para que os compostos fossem mais facilmente extraídos para a fase gasosa [29].

Para a extração e injeção dos compostos no GC-MS (Figura 2.11) foi utilizado um injetor automático Bruker programado para que as amostras estivessem 5 minutos iniciais a equilibrar a 40°C e 30 minutos, também a 40°C, expostas à fibra SUPELCO 57329-U (DVB/CAR/PDMS) usada para extração, De seguida a fibra é colocada no injetor a 250 °C onde é desadsorvida. Para a análise usou-se um cromatógrafo Bruker Scion SQ acoplado com espectrometria de massa. O aparelho encontrava-se equipado com coluna capilar ZB-5MS da Phenomenex® não-polar com enchimento de 5% Fenil-arileno e 95% Dimetilpolisiloxano com as dimensões 30m x 0,25µm x 0,25mm de diâmetro interno. As análises foram efetuadas com hélio como gás de arraste com um caudal de 1,70 mL/minuto. A injeção foi feita em splitless a 250°C e com um delay de 3 minutos para omissão do pico de etanol. O método traçado inicia a 40°C, seguido de uma primeira rampa de aquecimento de 7°C/minuto até aos 210°C e uma segunda a 10°C/minuto até aos 250°C, onde finalmente se mantém a esta temperatura por 5,41 minutos, tendo o método cromatográfico no seu total uma duração de 34 minutos. No detetor de massa foi usado a ionização por impacto com eletrões a 70 eV.



Figura 2.11 – Equipamento de cromatografia gasosa/espetrometria de massa com injetor automático usado no estudo de compostos voláteis

Para cálculo do índice de Kovats dos compostos presentes nas amostras, foi injetado com o mesmo método cromatográfico programa descrito acima, uma mistura de hidrocarbonetos entre C8 e C20. Esta mistura de hidrocarbonetos dará origem a um perfil cromatográfico no qual todos os picos e os respetivos tempos de retenção são conhecidos. Através do conhecimento do tempo de retenção dos hidrocarbonetos e do número de carbonos de cada composto é possível o cálculo dos seus índices de Kovats (Equação 2.2). Os índices destes hidrocarbonetos que são utilizados como referência para o cálculo dos índices de retenção dos picos nos restantes cromatogramas assegurando uma melhor identificação dos compostos e a comparação dos resultados com a literatura. A análise e identificação dos compostos é feita pelo programa MS Data Review com recurso à biblioteca de compostos NIST MS library seguidos como critérios de seleção a largura do pico não exceder os 0,4 segundos, uma razão de sinal/ruído de 10 e uma intensidade do pico superior a 2×10^8 GCps. Todos os cromatogramas foram sujeitos aos mesmos critérios de seleção.

$$KI = 100n + 100 \frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n}$$

Equação 2.2 - Cálculo do Índice de Kovats (KI) (n= número de carbonos do alcano que elui antes do composto de interesse; t_x = tempo de retenção do composto de interesse; t_n = tempo de retenção do alcano que elui imediatamente antes; t_{n+1} = tempo de retenção do alcano que elui imediatamente depois)

3 Discussão e resultados

O vinho é uma bebida com história e com grande impacto cultural na sociedade. A qualidade do vinho é um fator importante para os produtores. Um bom vinho representa nome, reputação e por isso mais lucro. Existem várias características a partir das quais se pode avaliar os atributos de um vinho e daí inferir a sua qualidade. A identificação das características desta bebida está em tudo associada aos sentidos primários, principalmente ao olfato, à visão e ao palato. A cor do vinho é um fator importante na percepção da qualidade e também um indicador de problemas. O controlo deste parâmetro no vinho associado aos polifenóis e aos voláteis dão vasta informação a um produtor de vinho. Com esta informação na sua posse é possível o ajuste do vinho para se atingir as características ideais e assim maximizar-se o lucro [30].

3.1 POLIFENÓIS TOTAIS

Os compostos fenólicos presentes nas plantas, desenvolvem um papel importante nos seus derivados fornecendo estabilização aos mesmos e novas propriedades organoléticas. Não sendo exceção, também no vinho, a principal fonte de polifenóis é a uva. É principalmente a partir deste fruto que são extraídos, durante o processo de vinificação, os compostos que irão caracterizar um vinho organolepticamente. No entanto, a uva não é a única fonte capaz de ceder polifenóis ao vinho, podendo estes ser adquiridos posteriormente durante a evolução e envelhecimento da bebida provenientes das madeiras de estágio ou por adição de pó de tanino (Figura 1.1). Entre os polifenóis adquiridos pelo vinho, podemos ter compostos como flavan-3-óis, taninos e antocianinas. As antocianinas e os taninos estão particularmente ligados à coloração dos vinhos sendo compostos pigmentados de cor azul/vermelha e os principais responsáveis pela intensificação da cor vermelha, respetivamente [31].



Figura 3.1 -Fonte de proveniência de taninos e outros polifenóis no vinho

No presente trabalho fez-se o estudo dos polifenóis totais (PT) das soluções hidroalcoólicas ao longo do tempo, do tipo de vinho, branco e tinto e estágio em madeira num único momento da sua evolução/envelhecimento, com recurso à reação com o reagente de Folin-Ciocalteu. Este estudo revela-se importante no enquadramento do trabalho em duas diferentes vertentes. Numa primeira abordagem, o acompanhamento do valor dos polifenóis totais ao longo tempo (9 dias) nas soluções hidroalcoólicas permitiu inferir o momento no qual estas se encontrariam perto de um equilíbrio, não havendo por isso alterações significativas na quantidade de polifenóis em solução se migradas da madeira. Sendo os polifenóis os principais responsáveis pelas alterações colorimétricas no vinho, ao se encontrarem numa fase onde não seja significativa a sua variação, é de esperar que a cor também se encontre perto de estabilizar, não variando tanto como nos primeiros dias de experiência. Por outro lado, a medição dos polifenóis totais indicar-nos-á qual a madeira e a queima que mais poder tem para enriquecer o vinho em termos colorimétricos, bem como, dar noção aproximada do tempo que será necessário ter a madeira em contacto com a bebida para se obter a cor e o teor polifenólico desejado. Não foram discriminados os teores em antocianinas e em taninos neste trabalho pois o seu objetivo é o estudo da alteração da cor bem como a comparação entre o estudo colorimétrico feito por duas técnicas diferente e não a evolução discriminatória dos polifenóis.

3.1.1 SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS DE APARAS

O estudo do conteúdo polifenólico capaz de ser cedido pelas madeiras é feito com recurso às soluções hidroalcoólicas (SH). As SH mimetizam o extrato puro e muito concentrado do que as madeiras cedem ao vinho quando estes dois elementos se encontram em contacto, bem como, a maneira como o cedem consoante o tratamento de torrefação recebido pelas mesmas. Para obter os valores de polifenóis totais das soluções foi feita a leitura da sua absorvância a 760 nm. Segundo o método recomendado pela OIV para a determinação do conteúdo polifenólico em bebidas de origem vitivinícola, é este o comprimento de onda ao qual, a solução resultante da reação do ensaio com o reagente de Folin-Ciocalteu, apresenta o seu pico de absorção derivado à sua cor azul forte resultante da reação de oxidação dos compostos fenólicos com o reagente (Figura 3.2). Os resultados desta leitura obtidos em equivalentes de ácido gálico (GAE) em mg/dm^3 por definição e devido à elevada concentração de madeiras nas soluções hidroalcoólicas os valores destas estão inflacionados numa razão de 1:25 [26,31,32].

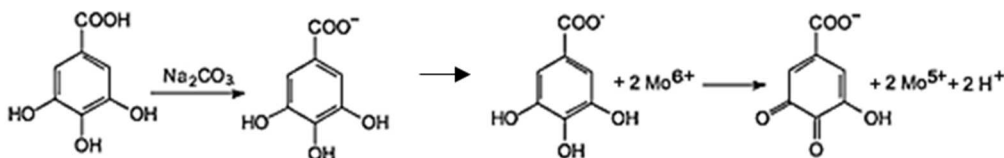


Figura 3.2 - Reação de oxidação do ácido gálico por parte do molibdénio presente no reagente de Folin-Ciocalteu(adaptado de: oliveira et.al, 2009)

Observando o perfil evolutivo das soluções hidroalcoólicas (Figura 3.3) pode-se ver que é nos primeiros dias de experiência que são extraídos a grande maioria dos compostos fenólicos independentemente do tipo de espécie botânica ou do grau de queima em questão. A partir do segundo dia até ao final da experiência, que foi tido como o décimo primeiro dia, a quantidade de polifenóis é maioritariamente crescente apesar de que as alterações registadas não são tão significativas como as extrapoladas nos dias anteriores. O perfil evolutivo de qualquer uma das madeiras nem sempre é constante, havendo descidas nos valores de polifenóis totais registados. Estas alterações podem explicar-se pelo facto de durante o processo de extração dos compostos fenólicos haver um movimento constante de absorção e adsorção desses

compostos, alterações no volume de SH devido às recolhas de amostras, e ainda, a possível ocorrência de formação de complexos e/ou condensação entre os polifenóis [33,34].

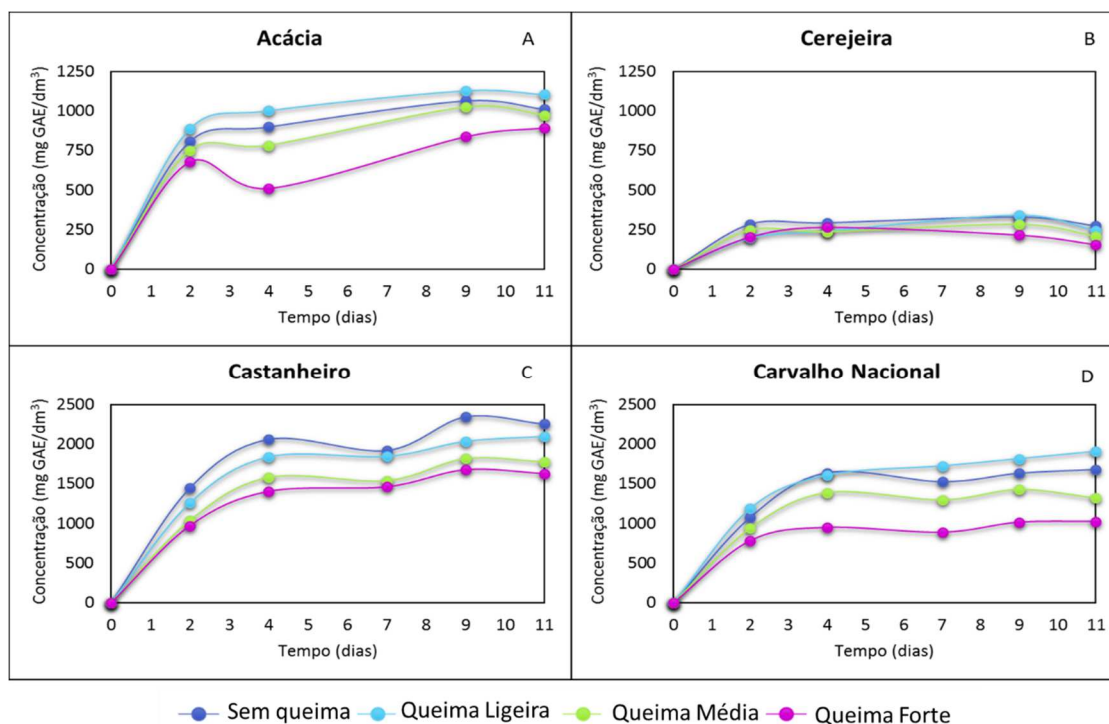


Figura 3.3 - Polifenóis totais das soluções hidroalcoólicas das diferentes madeiras. Perfis evolutivos ao longo dos onze dias de análise. Valores expressos em mg GAE (equivalentes de ácido gálico) / L de solução

Na Tabela 3.1 temos presentes os valores de polifenóis totais ao fim das soluções estarem nove dias em contacto com as madeiras. São apresentados os valores ao final do nono dia de experiência uma vez que, neste ponto, a concentração de polifenóis não sofre grandes alterações como podemos observar nos gráficos A,B,C e D da Figura 3.3. O recente estudo de Psarra et.al (2014) com SH de acácia, cerejeira e carvalho mostra que os valores registados na Tabela 3.1 são coerentes. Neste artigo, tal como no estudo realizado, a madeira com menos polifenóis em migração é a de cerejeira com 68 mg GAE/L, seguida da acácia com 175 mg de GAE/L e a de carvalho com 650 mg GAE/L, ao final de 10 dias de experiência. Os valores são mais reduzidos pois usaram-se 6,9 g/L, 10,19 g/L e 8,7 g/L em cerejeira, acácia e carvalho respetivamente. Não é possível fazer uma correlação direta com os valores de Psarra

et.al (2014) pois no mesmo artigo a autora deduz que a relação de polifenóis/g de madeira utilizada não é linear devido a alterações na difusão dos compostos [35].

Tabela 3.1 - Valores de polifenóis totais presentes nas soluções hidroalcoólicas no dia 9 (valores em mg de equivalentes de ácido gálico/dm³)

	<i>Acácia</i>	<i>Cerejeira</i>	<i>Castanheiro</i>	<i>Carvalho</i>
<i>Sem queima</i>	1065,2 ± 57,75	310,9 ± 5,57	2346,3 ± 189,95*	1631,5 ± 141,94
<i>Queima Ligeira</i>	1127,7 ± 125,24*	321,3 ± 6,26*	2035,4 ± 162,12	1815,5 ± 160,03*
<i>Queima Média</i>	1024,3 ± 27,83	267,6 ± 20,87	1817,4 ± 211,52	1427,8 ± 16,70
<i>Queima Forte</i>	837,9 ± 38,27	203,7 ± 4,17	1675,3 ± 285,97	1014,0 ± 45,23

*= Valores máximos registados entre queimas da mesma espécie botânica

Segundo os dados apresentados, a espécie botânica com maior capacidade de ceder polifenóis para o meio é a madeira de castanheiro que apresenta uma concentração máxima de 2346 mg de equivalentes de ácido gálico/L de solução hidroalcoólica, seguida da madeira de carvalho com um máximo de 1816 mg de GAE/L, acácia e por fim cerejeira com 1128 mg de GAE/L e 321 mg de GAE/L respetivamente. É ainda possível observar que as madeiras com queima ligeira têm maior facilidade em doar polifenóis para o meio, apresentando o seu máximo de polifenólico em solução com o grau de queima referido, à exceção do castanheiro onde é atingido o máximo quando a madeira não apresenta qualquer grau de queima.

3.1.2 SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS DE DOMINÓS

Analisando os valores de polifenóis totais recolhidos nas amostras das soluções hidroalcoólicas com dominós (Figura 3.4), é notório que o seu perfil é, em alguns aspetos, diferente do obtido para as SH-aparas (Tabela 3.1). Em acácia o valor de polifenóis totais é menor em todas as queimas e o seu valor máximo é registado na madeira sem queima, mas que, ainda assim não atinge o valor mínimo lido em SH-aparas de acácia. No ensaio com a madeira de cerejeira os valores são semelhantes aos recolhidos nas SH-aparas sendo apenas de notar um ligeiro aumento no valor

correspondente à queima ligeira desta madeira. Em castanheiro há uma pequena diminuição dos valores de polifenóis mas de modo geral, entre os graus de queima o perfil mantém-se. Na madeira de carvalho também são registadas algumas diferenças, passando o valor máximo a ser registado na madeira sem queima.

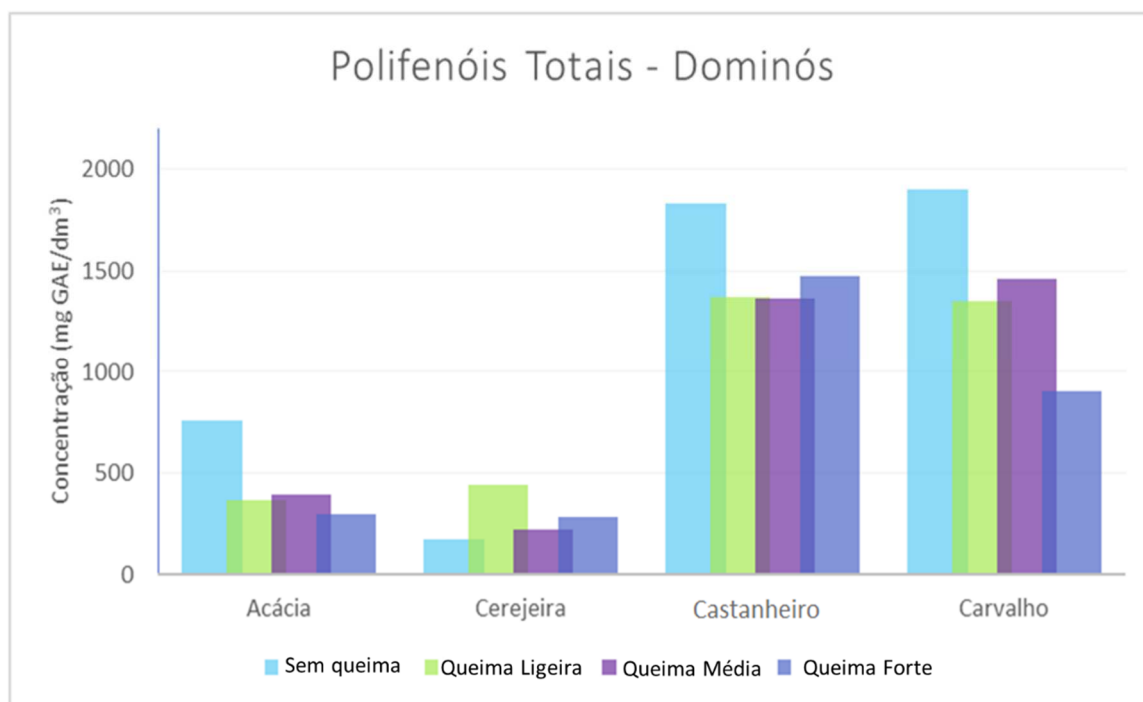


Figura 3.4 - Conteúdo polifenólico das soluções hidroalcoólicas de dominós.

Era de esperar que os valores de polifenóis totais se assemelhassem em ambos os ensaios ou aumentassem um pouco no ensaio com dominós, devido ao longo período de tempo em que os mesmos se encontraram em solução, mas isso nem sempre é observado. As diferenças registadas, podem no entanto, ser justificadas precisamente devido a esse tempo. Com o decorrer da experiência é natural que alguns dos compostos voltem a adsorver aos dominós ou que sofram oxidação do oxigénio presente no ar e de outros compostos em solução, o que leva à criação de novos compostos estabilizando a solução e à diminuição do teor em polifenóis quando comparados com as SH- aparas [34].

3.1.3 VINHO – PERFIL POLIFENÓLICO

Hoje em dia a prática de adição de aparas no vinho com o intuito de enriquecer este produto é utilizada em larga escala pelos produtores de vinho. A fim de se obter os melhores resultados no apuramento das características organoléticas de um vinho, no mais curto espaço de tempo possível, é usual os produtores recorrerem ao uso de aparas. É nas aparas que se consegue a maior área de exposição do vinho para com a madeira, alcançando-se uma extratibilidade superior dos compostos. A madeira com esta morfologia é geralmente utilizada em concentrações de 1-4g/L para vinhos brancos e 2-6 g/L para vinhos tintos [25].

No presente trabalho foram analisados um total de 17 tipos de vinhos brancos (Vbs) todos com a mesma base, onde em 16 dos quais foram introduzidas aparas de diferentes espécies botânicas com uma concentração de 2 g/L e um outro foi mantido sem qualquer madeira, sendo por isso a testemunha (o ensaio em branco) (Figura 3.5). De todos os vinhos testados, os de cerejeira foram os únicos a apresentar um grau de oxidação demasiado elevado, provando ser desagradável ao palato e por isso o seu teor em polifenóis totais é menor que o da testemunha.

No Vb-testemunha é registado um teor de polifenóis de 141,9 mg GAE/L de solução. Olhando para a literatura este valor encontra-se dentro do que é esperado para um vinho branco normal que se encontra entre 90 e 166 mg GAE/L. Comparando agora a testemunha com os restantes vinhos vemos que é na bebida com madeira de carvalho – queima média que se registou o maior ganho em teor polifenólico passando a ter 216,4 mg GAE/L. Na madeira de castanheiro o maior enriquecimento polifenólico é notado na madeira sem queima (208,5 mg GAE/L) e em acácia na madeira com queima ligeira (206,7 mg GAE/L) [36].

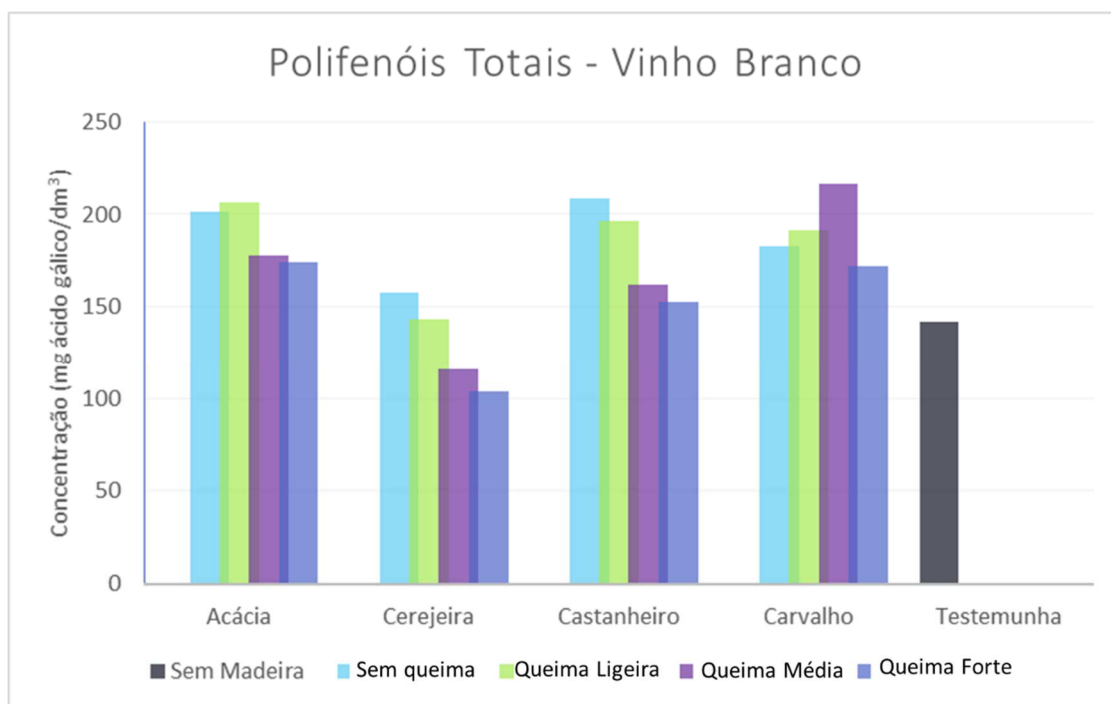


Figura 3.5 – Conteúdo polifenólico dos vinhos brancos após fermentação na presença das madeiras

Nos vinhos tintos (Vts), à semelhança dos Vbs, também 17 tipos de vinhos foram analisados mas com uma concentração de madeira de 6 g/L (Figura 3.6). Nestes vinhos a quantidade de polifenóis é muito superior à dos vinhos brancos mesmo no que concerne ao vinho testemunha que apresenta 1249,4 mg GAE/L, sendo este também um valor normal para qualquer vinho comercial corrente que se encontra entre 874 mg GAE/L e 1973 mg GAE/L [36].

Nos vinhos tintos com madeiras o conteúdo em polifenóis é sempre mais elevado do que o da testemunha, não apresentando, perante o teste de degustação a que foram sujeito, graus de oxidação elevados. A madeira de cerejeira, na presença de vinho tinto, exibe uma grande capacidade de cedência de compostos fenólicos para o meio, particularmente, para a queima ligeira onde se registou 2229,3 mg GEA/L. É seguida da madeira de carvalho que, neste ensaio, regista o valor mais elevado de polifenóis adquiridos em queima ligeira com 2222,4 mg GAE/L.

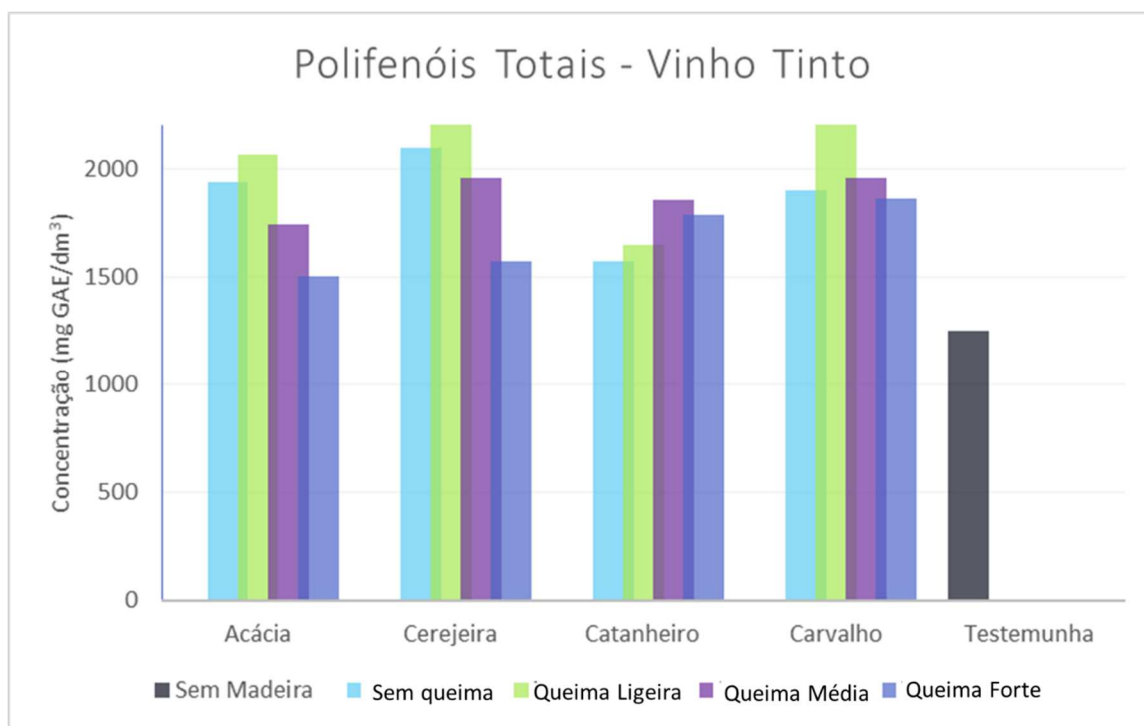


Figura 3.6 - Conteúdo polifenólico dos vinhos tintos após 13 dias na presença das madeiras

Segundo o estudo evolutivo das aparas em soluções hidroalcoólicas, era expectável que o maior teor em polifenóis fosse registado nos vinhos quando estes se encontrassem em presença da madeira de castanheiro, uma vez que é nestas madeira que se registam as maiores concentrações. No entanto o que se observa nos vinhos é que a madeira com maior capacidade de enriquecimento do meio em teor polifenólico é a de carvalho com queima média ou ligeira e no caso particular do vinho tinto cerejeira. É de notar que os vinhos têm mais tempo para que a sua matriz estabilize, o que já demonstrou que causa alterações fora do esperado no teor em polifenóis totais observadas no estudo com dominós. Existe também o facto de os vinhos possuírem outros componentes na sua matriz, que à partida, pode vir a influenciar a resposta obtida pelo teste com o reagente de Folin-Ciocalteu. Os compostos do vinho poderão reagir com os que irão ser cedidos pelas madeiras levando a uma aumento do conteúdo polifenólico, ou seja, devido à interação de micro-organismos existentes no vinho com compostos aromáticos secundários ou, até por degradação da própria lignina presente na madeira, poder-se-ão formar novos elementos fenólicos em solução. O facto de os compostos não evoluírem de maneira igual nas soluções hidroalcoólicas e no vinho pode eventualmente dever-se às diferentes madeiras responderem de maneira distinta

aos estímulos presentes no vinho. Estes estímulos podem ser o conteúdo polifenólico oriundo do próprio vinho que irá reagir com os diferentes compostos que migram das madeiras ou pela composição química da bebida que permite a melhor difusão de alguns compostos que quando se encontram numa solução hidroalcoólicas apresentam outro comportamento [34,36].

3.2 ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO

3.2.1 SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS COM APARAS - ALTERAÇÕES

3.2.1.1 Luminosidade – Parâmetro L^*

Começando por analisar o fator luminosidade das soluções hidroalcoólicas com aparas ao longo dos onze dias em que o estudo decorreu, observa-se que o parâmetro L^* de um modo geral tende a diminuir o seu valor absoluto com o passar dos dias como se pode constatar pelos gráficos (Figura 3.7, Figura 3.8, Figura 3.9 e Figura 3.10). No décimo primeiro dia todas as SH-APARA, independentemente do tipo de madeira ou do grau de queima em questão, apresentam um valor mais baixo de L^* comparativamente ao primeiro dia em que foram efetuadas leituras. O escurecimento por parte das soluções é, no entanto, um comportamento coerente com o esperado, já anteriormente observado na literatura. Ao longo dos dias em que a madeira se encontra em contacto com a solução espera-se que seja crescente a concentração de compostos em difusão, até atingir um patamar de equilíbrio. Há, por isso, um aumento de pigmentos cedidos pelas madeiras que levam a uma alteração na cor das soluções refletida na perda de luminosidade e, consequentemente, uma diminuição do respetivo valor de L^* [23].

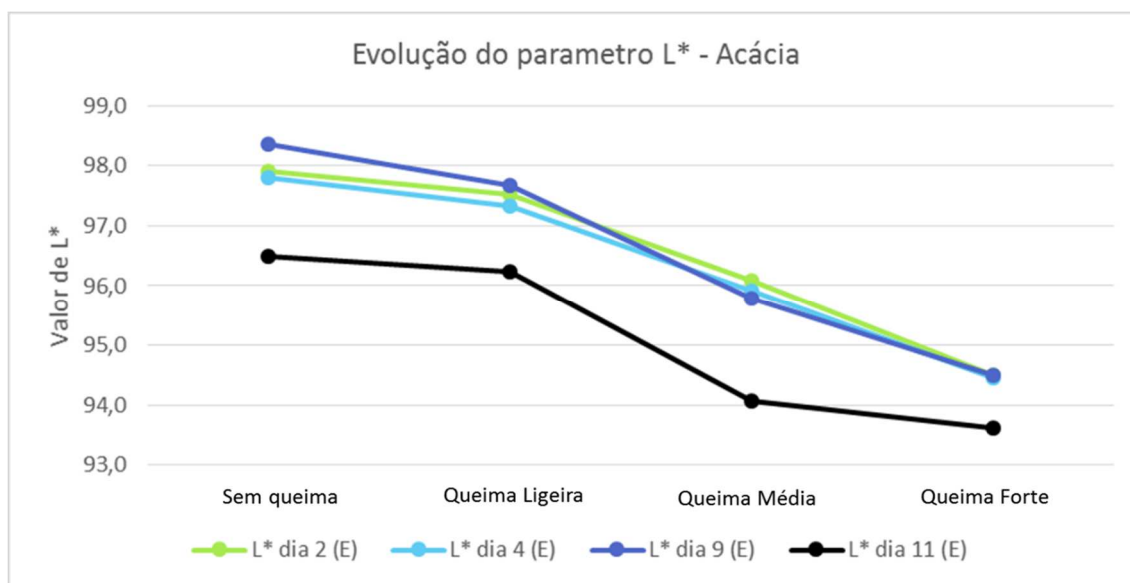


Figura 3.7 - Gráfico de evolução do parâmetro L* nas soluções de acácia com diferentes queimas ao longo dos dias de análise

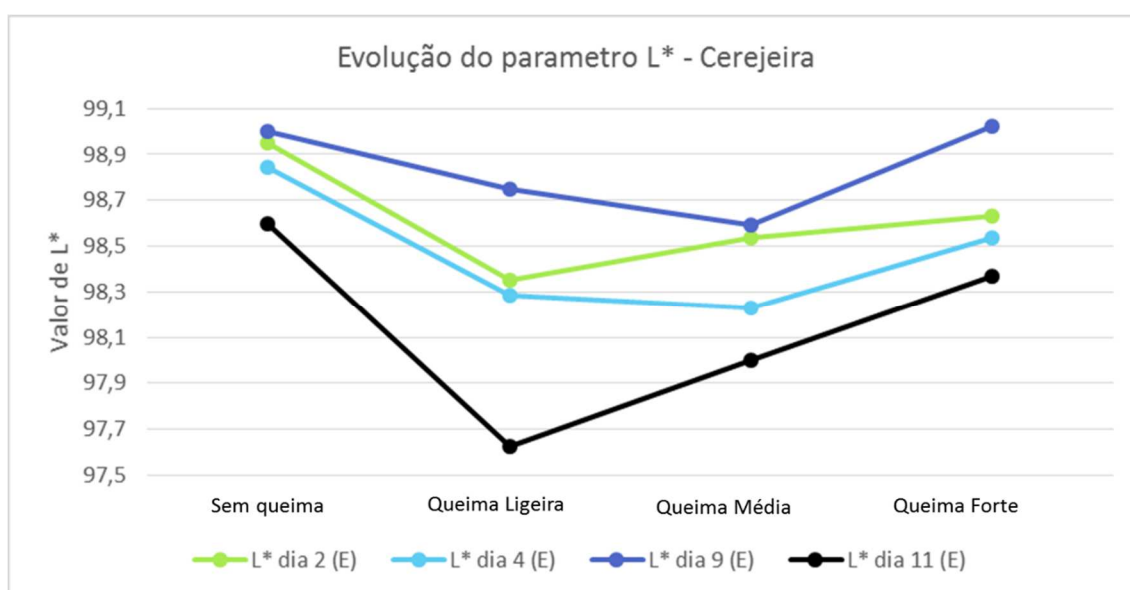


Figura 3.8 - Gráfico de evolução do parâmetro L* nas soluções de cerejeira com diferentes queimas ao longo dos dias de análise

Nas soluções hidroalcoólicas pode ainda observar-se variações do fator L* com os diferentes graus de queima nas madeiras. Ao contrário do que viu ao longo dos dias, o comportamento das soluções consoante o grau de queima usada não é tão linear. As diferentes queimas provocam alterações no valor de L* mas estas não mantêm o mesmo padrão de alteração em todas as madeiras. Nas SH-Acácia, Castanheiro e

Carvalho vemos que, a variável L^* evolui de modo inverso ao aumento do grau de queima da madeira. Ou seja, a luminosidade das soluções apresentam-se mais alta quando a queima é menor e mais baixas quando a queima é mais forte. Em cerejeira, o mesmo já não é válido, uma vez que, é a solução com a madeira que possui a queima ligeira que apresenta um menor valor de L^* . Em qualquer um dos casos, pode-se dizer que modo geral, o esperado é que o fator L^* seja menor nos graus de queima mais fortes e maiores quando na presença de uma madeira sem queima mesmo que não variando de forma igual entre as espécies botânicas estudadas.

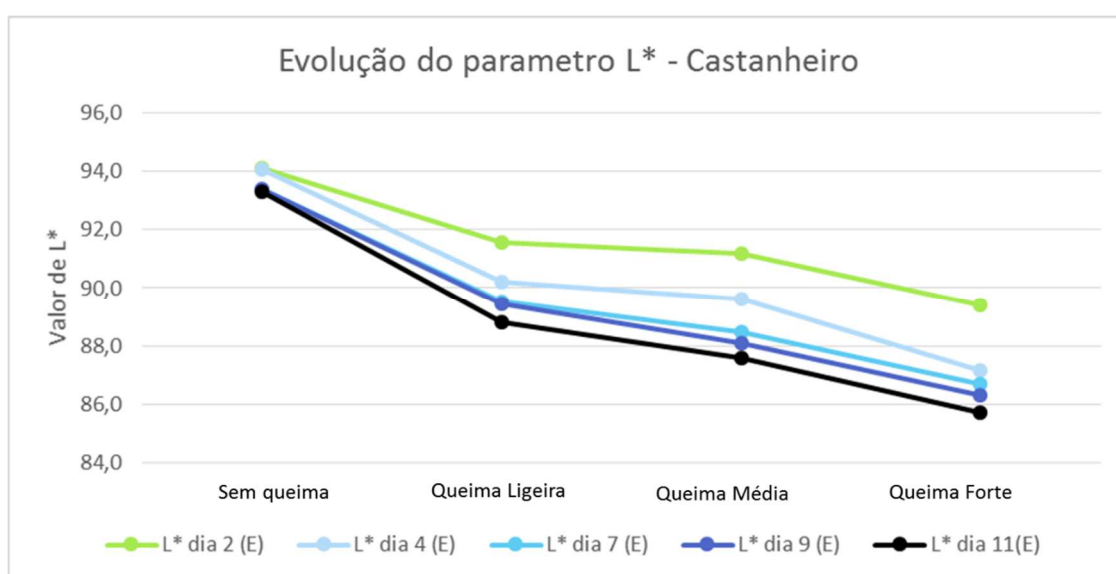


Figura 3.9 - Gráfico de evolução do parâmetro L^* nas soluções de castanheiro com diferentes queimas ao longo dos dias de análise

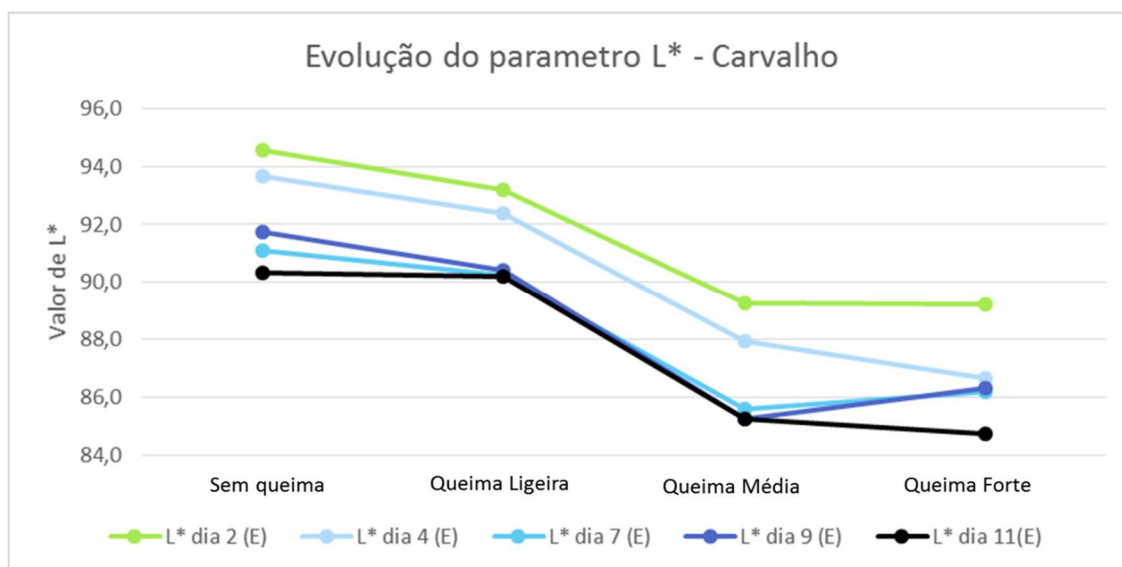


Figura 3.10 - Gráfico de evolução do parâmetro L* nas soluções de Carvalho Nacional com diferentes queimas ao longo dos dias de análise

Diferindo as madeiras na sua matriz e composição química é natural que a resposta ao processo de queima seja diferente. O facto de uma espécie botânica apresentar uma composição diferenciada nos seus componentes primários, como celulose, hemi-celulose ou lignina, é o suficiente para alterar a sua resposta de difusão de compostos nas soluções, e por isso, provocar as alterações ao nível da luminosidade descrita anteriormente. É também de esperar que nas madeiras existam compostos com mais sensibilidade térmica que outros. Estes compostos ao serem sujeitos a um processo térmico poderão vir a sofrer alterações nas suas estruturas ou até decomposição, podendo levar à alteração das propriedades físico-químicas, como é o caso da solubilidade e alteração na sua capacidade de absorção/adsorção. É por isso natural, que quando as madeiras com os diferentes graus de queima se encontram em infusão, não cedam os compostos de uma maneira uniforme levando então às variações da luminosidade observadas mesmo entre madeiras com a mesma origem botânica [37,38].

3.2.1.2 Verde/Vermelho – Parâmetro a^*

O parâmetro a^* representa a componente da cor entre o verde e o vermelho. Segundo este mesmo parâmetro as soluções hidroalcoólicas estudadas podem agrupar-se em dois modos de resposta distintos com o passar do tempo. Primeiramente, nas SH-Acácia e Cerejeira, que ao longo da passagem dos dias de experiência apresentam um decréscimo do valor da a^* , sendo que, de um modo geral, de entre todos os graus de queima é no nono dia que este valor é mais negativo, ou seja, as soluções tendem a aumentar o seu conteúdo em componente verde (Figura 3.11 e Figura 3.12). O decréscimo da coloração vermelha com o passar dos dias pode dever-se a uma supressão dos compostos capazes de ceder essa cor, ou seja, os compostos colorimétricos com capacidade de aumentar o valor da variável a^* encontram-se em solução mas com o passar dos dias eles irão ser mascarados com a existência de outros compostos [5,39].

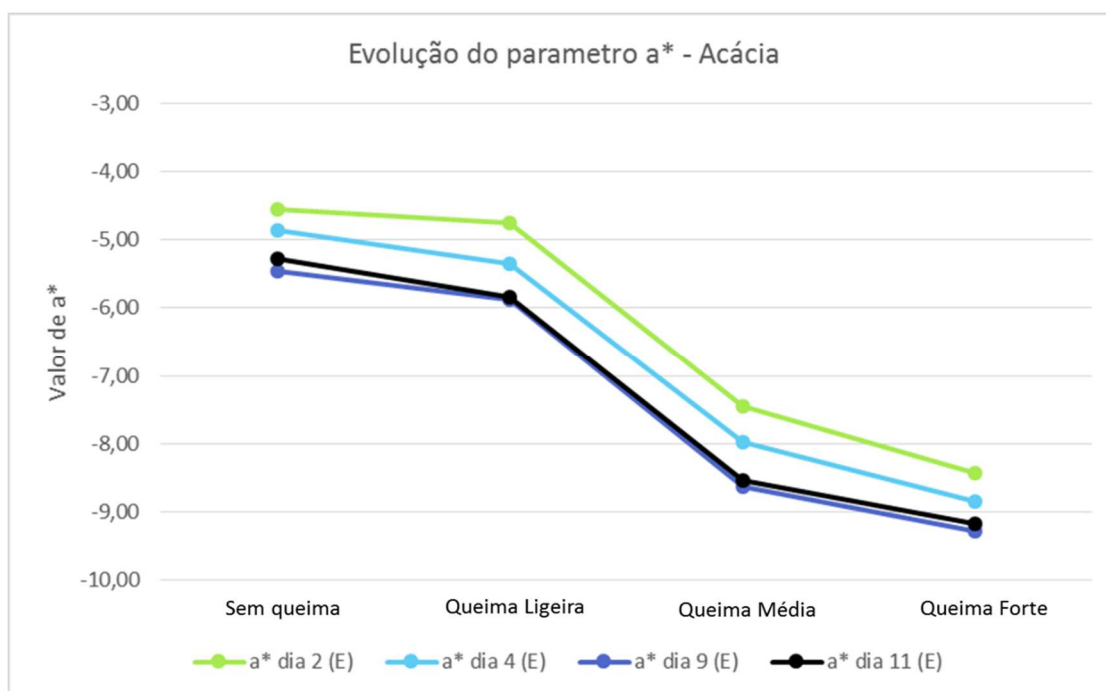


Figura 3.11 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de acácia com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

Considerando as variações do valor de a^* das madeiras de acácia e de cerejeira, verifica-se que ambas variam da mesma maneira, apresentando valores tanto mais negativos quanto a maior o grau de queima aplicado. É ainda possível observar que quanto maior é o grau de queima da madeira menos componente vermelha esta será capaz de ceder à solução. O decréscimo da cor vermelha com o aumento da queima pode estar relacionado com a deleção de alguns compostos fenólicos durante o tratamento térmico das madeiras. Como se pode ver no estudo dos PT, graus de queima mais altos cedem menos polifenóis, podendo ser indício dessa degradação, existindo por isso menos compostos como antocianinas e taninos para migrarem para a solução. No dia 11 há um pequeno acréscimo nos valores registados que se pode dever a interações ocorridas entre os compostos já em solução que terão reagido entre si e formado pigmento poliméricos com capacidades colorimétricos que favorecerão a cor vermelha [5,39].

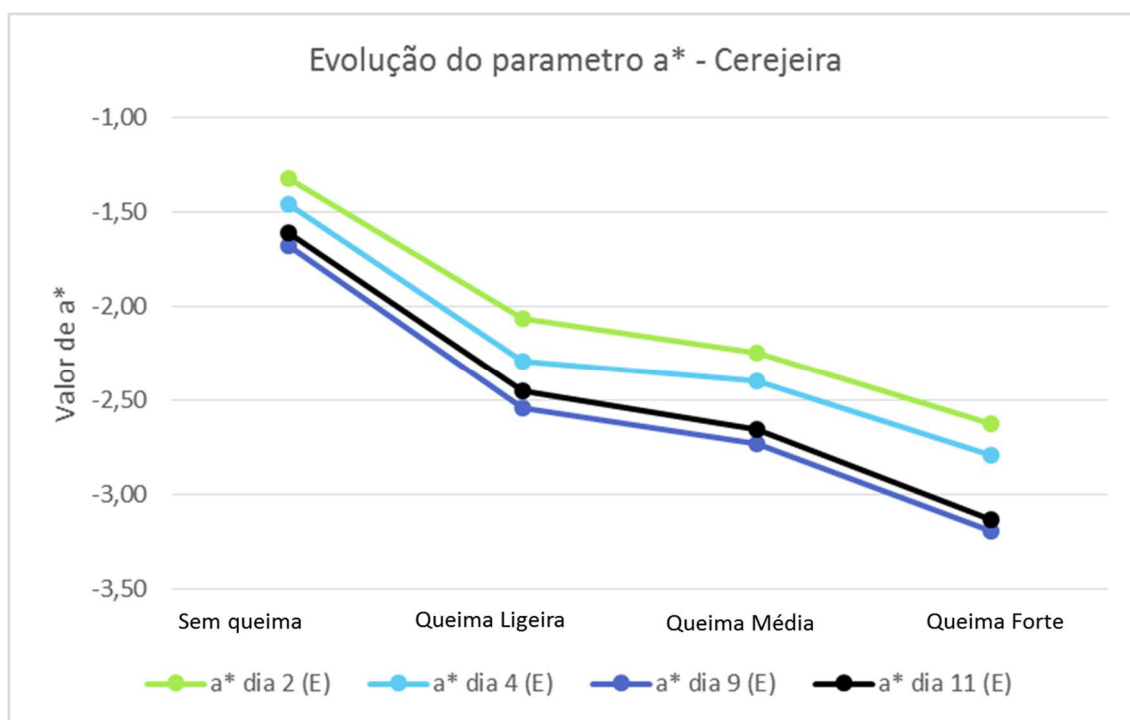


Figura 3.12 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de Cerejeira com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

Nas soluções hidroalcoólicas de Castanheiro e Carvalho Nacional, a resposta registada é diferente das demais madeiras. Com o passar do tempo estas madeiras,

não só tendem a aumentar o valor de a^* como sofrem uma inversão nos valores registados, alterando o seu comportamento entre a madeira sem queima e com queima ligeira (Figura 3.13 e Figura 3.14). Analisando a evolução das soluções, com o passar dos dias, observa-se que ambas as madeiras de um modo geral, tendem a aumentar o seu parâmetro a^* apresentando uma tendência em fortalecer a componente vermelha das soluções, o que significa que, os compostos que doam cor vermelha têm maior incidência nestas madeiras em relação às de acácia e de cerejeira. Existe a exceção quando falamos das madeiras sem queima. Nestas soluções provenientes da utilização de madeiras não queimadas, a tendência é para a diminuição do conteúdo em componente vermelha e não do aumento à semelhança do que se passa com os restantes graus de queima das madeiras anteriormente referidas [5].

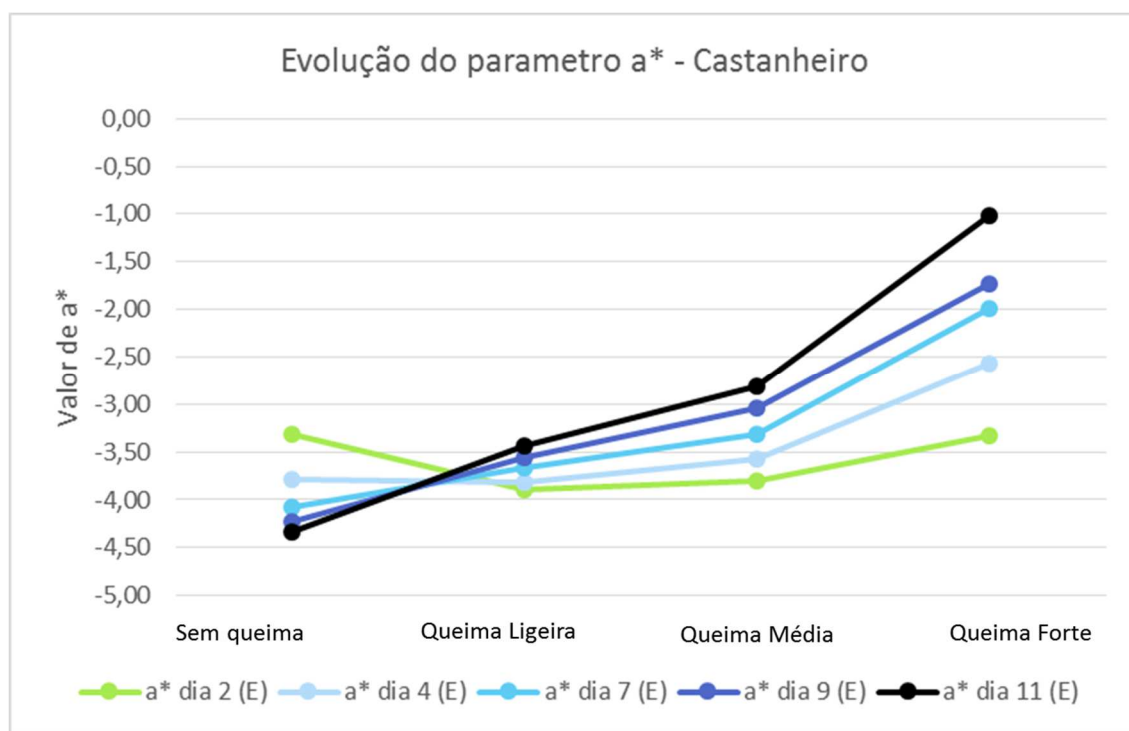


Figura 3.13 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de Castanheiro com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

Quanto à componente a^* das soluções é sempre no décimo primeiro dia de experiência que este parâmetro apresenta um extremo, quer seja ele um máximo ou um mínimo, independentemente da madeira em questão ou do seu modo de resposta. Em castanheiro e em carvalho não é observado a possível estabilização da cor como a

registada entre o dia 9 e o dia 11 nas madeiras de acácia e cerejeira quanto ao parâmetro a^* . Esta aparente ausência de equilíbrio pode dever-se à existência de polifenóis que ainda se encontrem em processo de estabilização, como é o caso dos taninos, que depois de algum tempo formam novos compostos responsáveis pela fortificação da coloração vermelha.

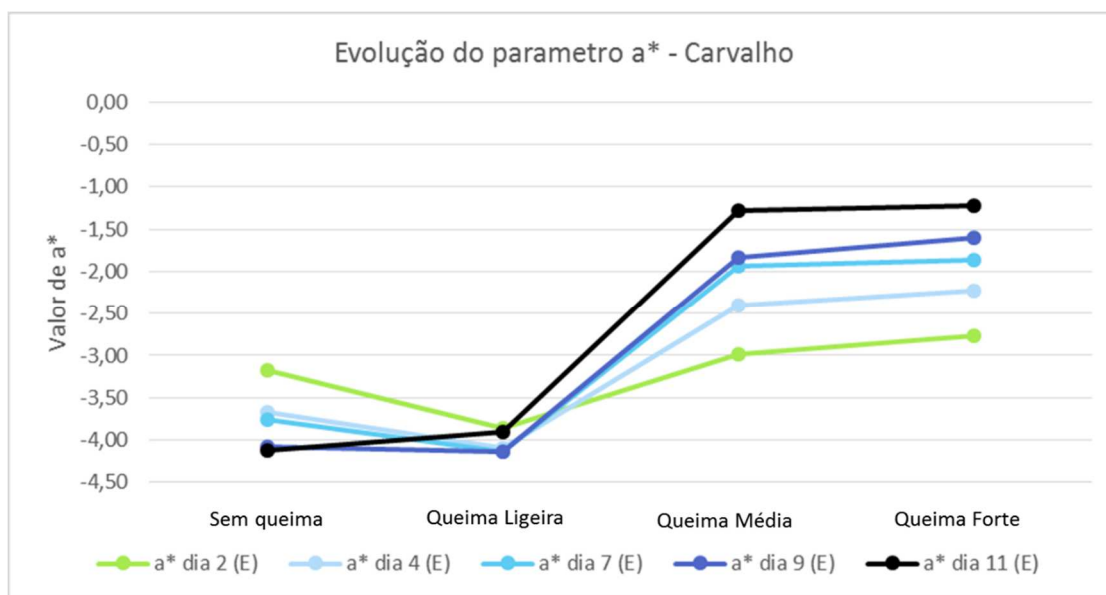


Figura 3.14 - Gráfico de evolução do parâmetro a^* nas soluções de Carvalho Nacional com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

3.2.1.3 Azul/Amarelo – Parâmetro b^*

O b^* representa a componente azul/amarela presente numa cor. Quanto mais negativo o valor de b^* mais azul a cor terá e por oposição quanto mais positivo o valor de b^* mais amarelo haverá na mesma.

Nas soluções hidroalcoólicas estudadas, o parâmetro b^* apresenta, em todas elas, uma evolução bastante semelhante independentemente da madeira em estudo. Como se pode ver nas Figura 3.15, Figura 3.16, Figura 3.17 e Figura 3.18 o valor de b^* vai sempre aumentando ao longo dos dias de experiência tornando as soluções mais ricas em componente amarela, característica da infusão da própria madeira e da sua queima adjacente. É ainda de notar que, esse mesmo valor não sofre grandes

alterações entre o dia 9 de recolha e o dia 11, o que vai de encontro ao inferido pelo estudo realizado com os polifenóis [40].

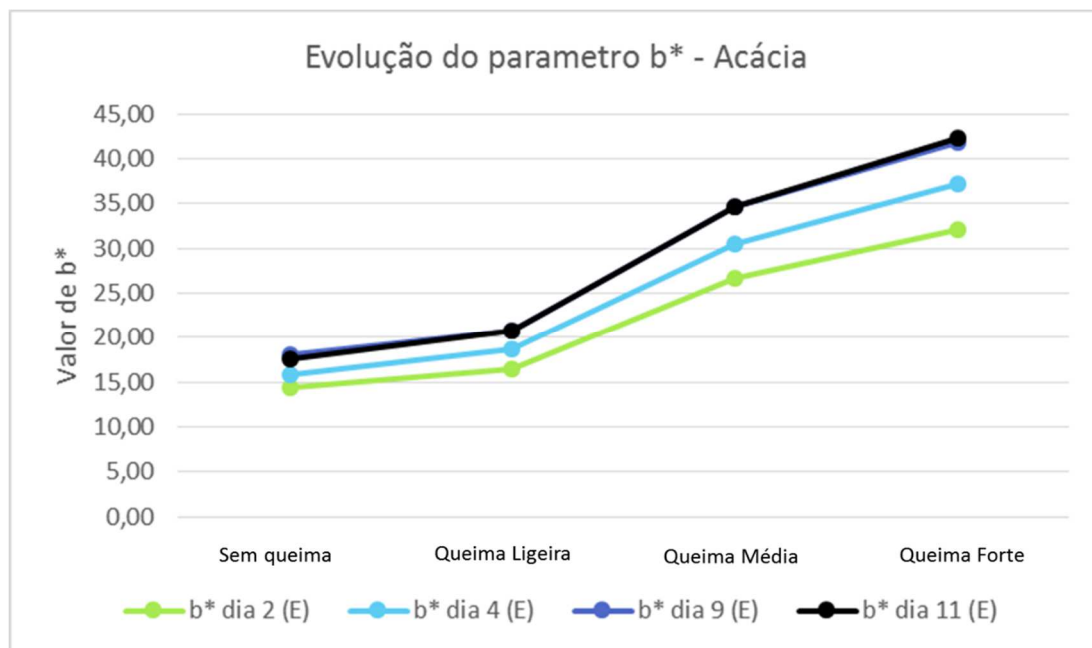


Figura 3.15 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de acácia com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

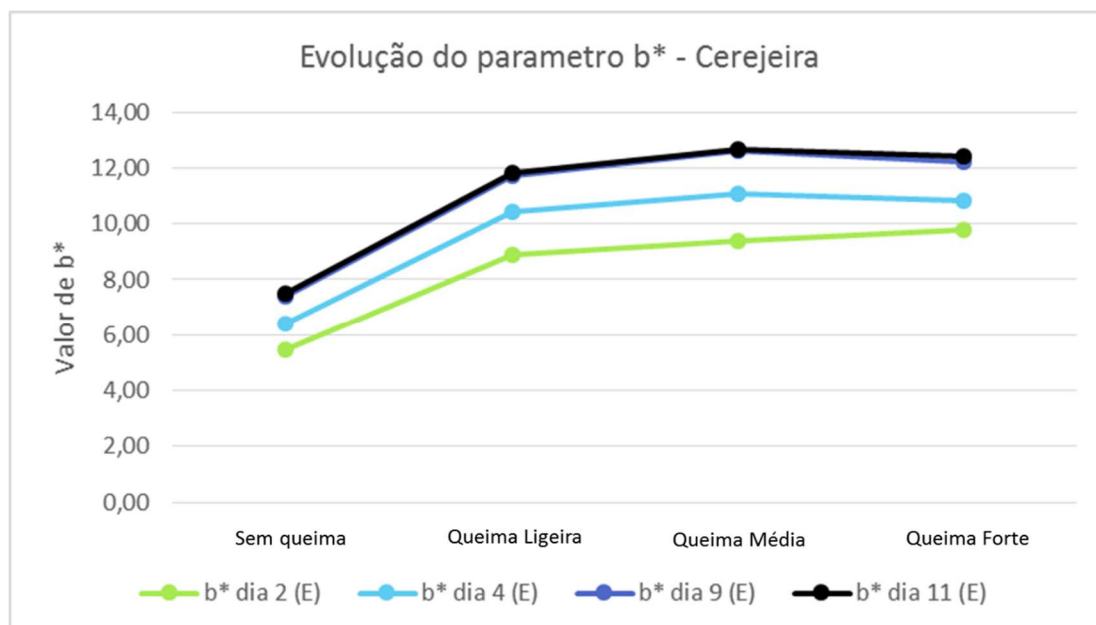


Figura 3.16 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de cerejeira com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

Considerando as diferenças observadas entre queimas, verifica-se que, com o aumento grau de queima das madeiras o valor de b^* fica cada vez mais positivo, o que indica um aumento da coloração amarela nas soluções, ou seja, o valor deste parâmetro é sempre mais baixo nas SH com madeiras sem queima e mais alto nas madeiras com queima forte. Apesar de entre de cada espécie botânica o valor se alterar de maneira diferente consoante o grau de queima, pode inferir-se que é comum a todas as madeiras a existência de componentes cedidos às soluções que provocam a intensificação na componente amarela na cor das mesmas. Estes componentes deverão ter origem na intensificação do grau de queima das madeiras e subsequentemente na degradação de alguns compostos.

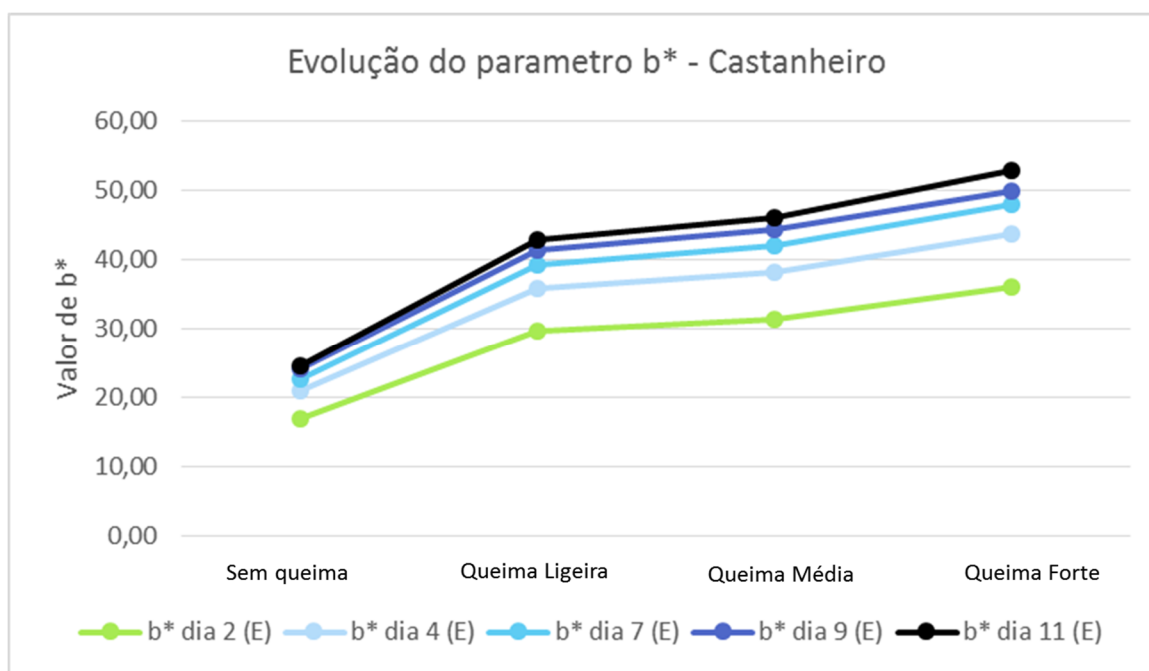


Figura 3.17 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de castanheiro com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

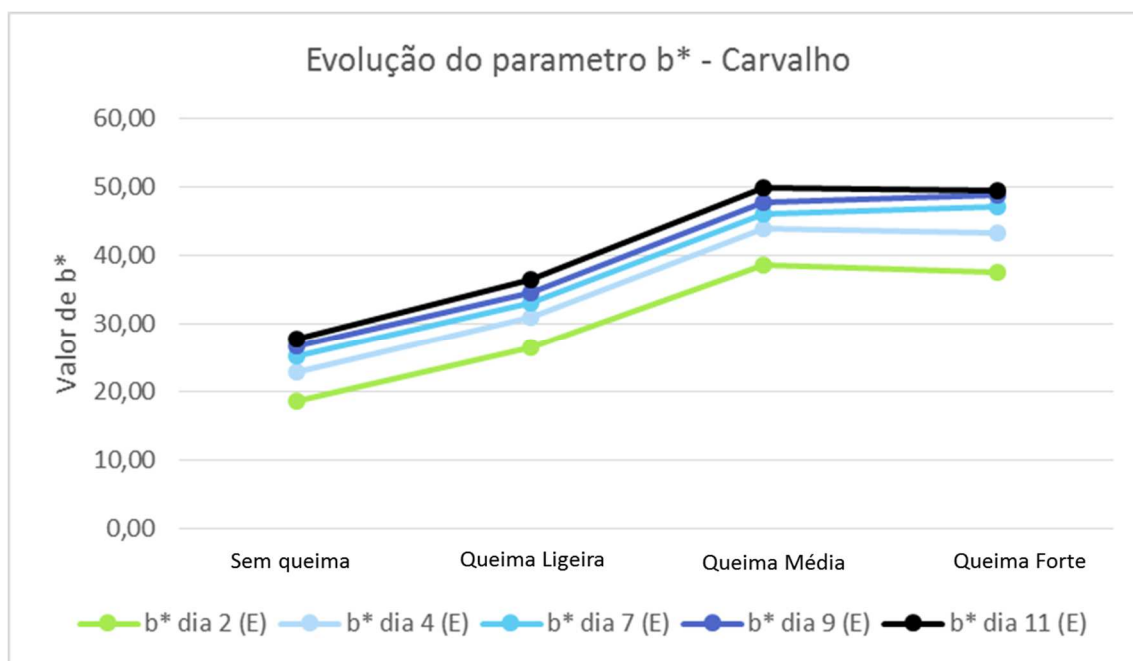


Figura 3.18 - Gráfico de evolução do parâmetro b^* nas soluções de carvalho nacional com diferentes queimas ao longo dos diversos dias de análise

3.2.2 COMPARAÇÃO COM OS VALORES OBTIDOS EM DOMINÓS

No presente trabalho foram ainda analisadas soluções hidroalcoólicas com dominós de modo a poder comparar a velocidade do processo com dois tipos de morfologias de madeira. As madeiras utilizadas nos dominós apresentam a mesma origem botânica e graus de queima que as aparas, sendo as soluções hidroalcoólicas preparadas com mesma composição e concentração, correspondendo a 50 g de madeira/L de solução.

Como se observa no gráfico da Figura 3.19 tanto os valores de L^* , a^* e b^* em acácia, cerejeira, castanheiro e carvalho não se alteraram muito quando comparadas com o dia 9 do estudo evolutivo das aparas. É apenas de notar pequenas alterações nos valores referentes às queimas médias e fortes de castanheiro e carvalho onde o valor de a^* se torna mais negativo. Pode-se inferir que, a velocidade de extratibilidade de compostos para o meio quando se utiliza como alternativo os dominós é bastante inferior à de aparas, muito provavelmente devido à morfologia que as madeiras apresentam, uma vez que a área superficial de contacto das aparas com a solução é significativamente maior. Pode ainda dizer-se que, a cor com o passar do tempo,

apesar de se poder estabilizar alterando um pouco os seus valores, nunca sofre uma transformação suficientemente drástica para modificar as suas características cromáticas.

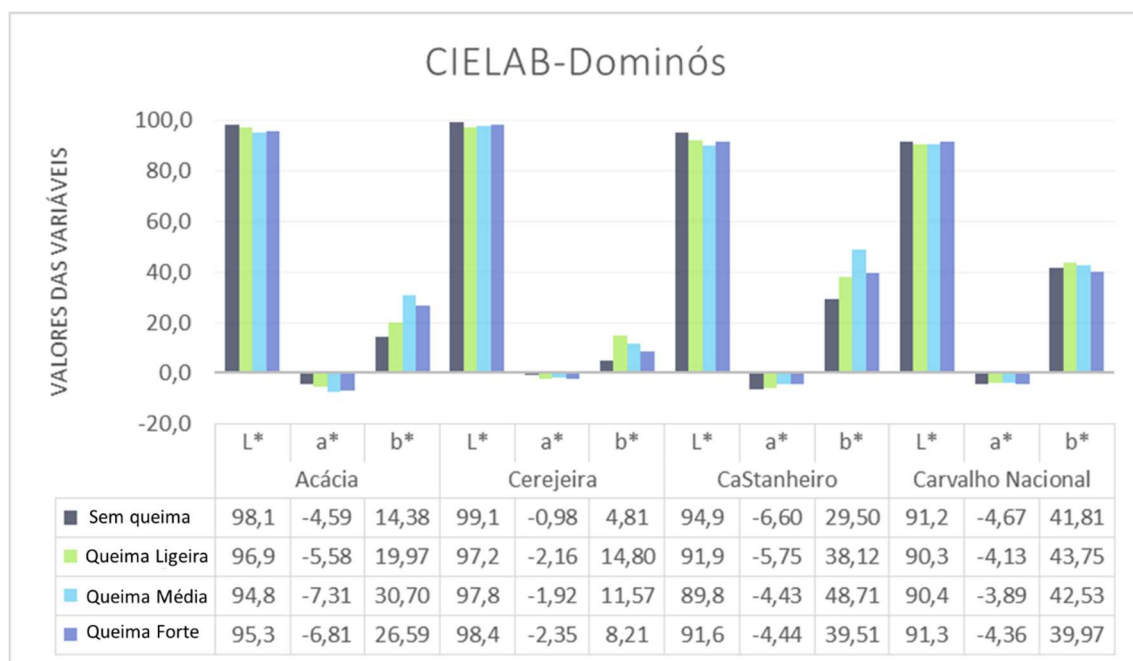


Figura 3.19 – Representação gráfica dos valores de L*,a* e b* obtidos a partir da análise espectrofotométrica das soluções hidroalcoólicas de dominós

3.2.3 ALTERAÇÕES DOS VALORES CIELAB NOS VINHOS

Começando por comparar os vinhos brancos tratados com as madeiras com a sua testemunha (Figura 3.20) observa-se que o parâmetro luminosidade (L*) é quase sempre superior quando há madeira no meio, levando a prever que a madeira pode auxiliar o vinho a ficar mais límpido. Os vinhos com cerejeira são os que apresentam maior luminosidade, seguidos dos de acácia e castanheiro e por fim os de carvalho.

A variável a* é mantida dentro dos mesmos valores, quer entre o vinho testemunha e os restantes vinhos com madeiras, quer entre as bebidas com madeiras da mesma espécie botânica mas com queimas diferentes. O facto de este valor não se alterar significativamente nos vinhos, nem com a presença de madeira, nem com os

diferentes graus de queima, indica que a concentração de madeira por litro de vinho usada não é suficiente para causar as perturbações neste parâmetro, como as observadas nas SH-aparas entre diferentes queimas.

Já nos valores de b^* são notadas algumas pequenas alterações. A testemunha tem o valor mais baixo de entre os vinhos, à exceção do vinho com cerejeira, possivelmente devido à oxidação da mesma. O aumento do valor b^* reflete-se num enriquecimento da coloração amarela, que de algum modo pode ser resultante da infusão da madeira e da presença de novos compostos em solução. Em acácia, os valores não variam de igual modo com os resultados obtidos nos polifenóis uma vez que é nos graus de queima com mais polifenóis que a variável b^* se mostra mais baixa. Há autores que atribuem o aumento da coloração azul (e consequentemente a diminuição de amarelo) à existência de mais antocianinas no meio que, dada a evolução do vinho, reagem criando compostos em solução que demonstram uma coloração acastanhada resultante do aumento da componente vermelha mais da azul. Já em castanheiro e carvalho, os graus de queima aos quais correspondem valores de b^* superiores representam também as mais ricas em polifenóis. Nestas madeiras o registo do aumento em b^* pode indicar que os compostos no meio ainda não estabilizaram e por isso ainda não é encontrado o aumento da componente azul oriundo da expressão colorimétrica das antocianinas após polimerizarem. No caso dos vinhos com cerejeira, a ausência desse aumento pode dever-se ao grau de oxidação apresentado. Todos os vinhos brancos analisados encontram-se com os seus valores de a^* e b^* dentro do que é normal que é de 79,2 a 80,8, de -2,70 a -1,49 e de 5,16 a 11,62 para L^* , a^* e b^* respetivamente. Apenas um valor de L^* elevado para o que seria de esperar num vinho branco corrente [5,41].

Observando o perfil das SH-aparas e do vinho branco encontram-se algumas semelhanças no comportamento entre queimas, com a exceção dos graus de queima fortes que têm um comportamento diferente. No que diz respeito ao L^* , tal com nas soluções hidroalcoólicas, nota-se um pequeno decréscimo do seu valor com o aumento da queima. Quanto aos valores de a^* , como já foi referido, não são notórias grandes alterações para se poder delinear uma tendência com os mesmos. A componente b^* apresenta a mesma resposta ao grau de queima registada nas SH-aparas mas muito

mais ténue. É de ressaltar que devido às diferenças de concentrações de madeiras em solução nos vinhos e nas SH- aparas é natural que as mudanças entre queimas não sejam tão demarcadas.

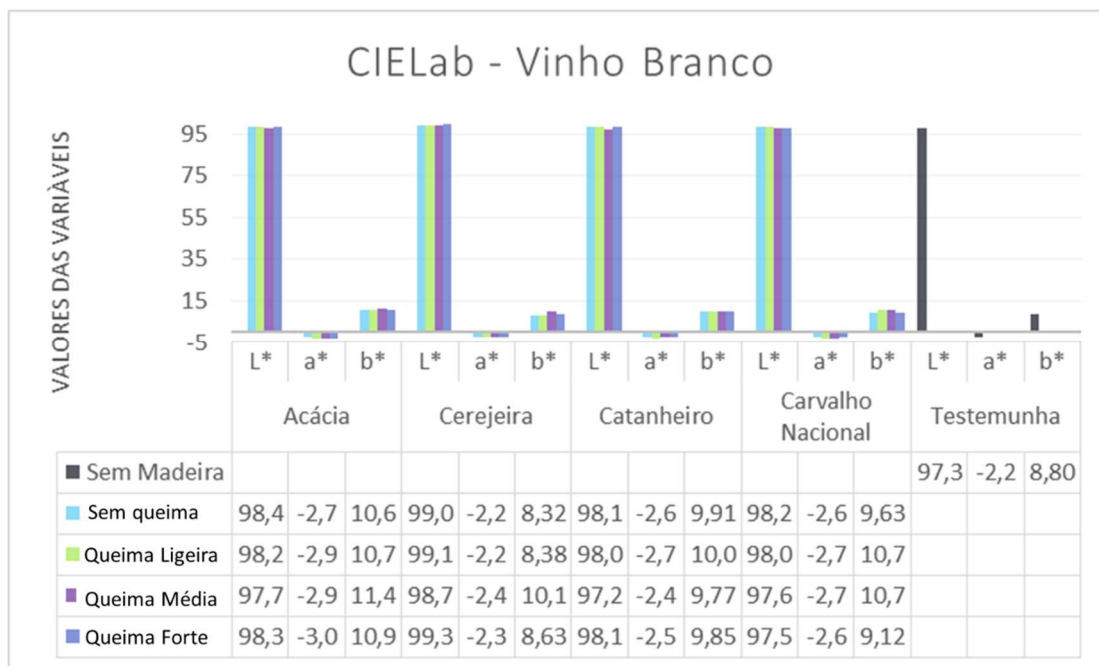


Figura 3.20 - Representação gráfica dos valores de L*, a* e b* obtidos a partir da análise espectrofotométrica dos vinhos brancos

No vinho tinto, ao contrário dos brancos, quando comparados com a literatura, demonstram ter um valor de L* baixo, de a* e b* alto, no entanto, o tempo de evolução e as castas usadas na sua produção são diferentes, podendo estar na origem das diferenças registadas, uma vez que os valores dos vinhos tintos analisados não se encontram muito distantes do que é esperado que é de 24,1 a 37,3, de 23,30 a 36,13 e de 11,05 a 25,75 para L*, a* e b* respetivamente. Quanto à comparação das componentes colorimétricas entre os vinhos analisados é visível que as madeiras induziram alterações no vinho base utilizado (Figura 3.21). Em comparação com a testemunha, os de acácia e cerejeira aumentaram a sua luminosidade enquanto que os de castanheiro e carvalho apresenta valores de L* mais baixos. O componente b*, tal como nos vinhos brancos, aumenta em relação à testemunha mas são os valores de a* que apresentam as maiores alterações, tal como o que era esperado segundo a literatura [41].

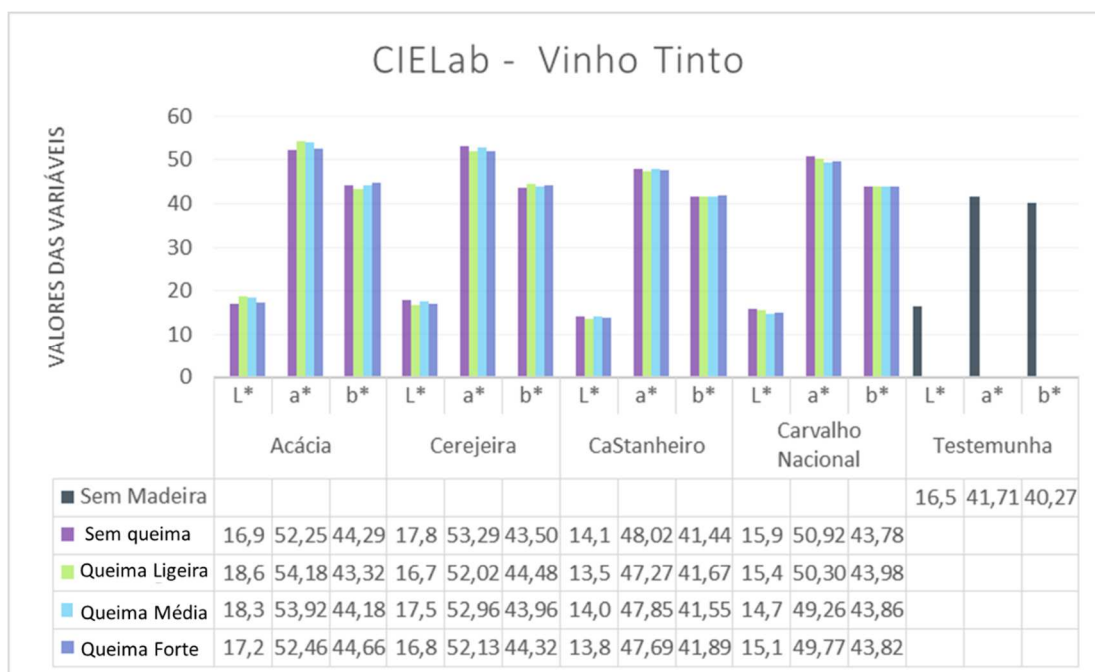


Figura 3.21 - Representação gráfica dos valores de L^* , a^* e b^* obtidos a partir da análise espectrofotométrica dos vinhos tintos

O aumento do valor absoluto de a^* representa um acréscimo na coloração vermelha da solução, devida à inserção de compostos fenólicos nos vinhos por parte das madeiras. No entanto, os perfis de polifenóis registados não se encontram exatamente de acordo com a análise colorimétrica presente na Figura 3.21, o que não descarta a afirmação anteriormente referida. Uma vez que os polifenóis podem sofrer alterações como por exemplo oxidações e polimerizações não respondendo de modo igual ao reagente de Folin mas ainda assim terem contribuído para a cor do vinho. As variações dos valores CIELab entre grau de queima são apenas de algumas casas decimais não sendo uma diferença suficiente para demarcar um perfil. É também natural que na matriz vinho tinto as variações das cores entre graus de queima diferentes sejam mascaradas pela intensa cor da própria bebida, notando-se apenas grandes diferenças entre a testemunha e os restantes vinhos. Devido à baixa concentração de g de madeira/L e pela forte coloração do próprio vinho torna-se ainda mais difícil que nos vinhos brancos a percepção das tendências entre as madeiras com diversos graus de queima. Por esse motivo não faz sentido tentar fazer uma comparação com o que é observado nas soluções hidroalcoólicas com aparas.

3.3 COLORIMETRIA

Para tentar perceber se outras técnicas de medição da cor se ajustavam tão bem à matriz vinho com a recomendada pela OIV (espectrofotometria), foi feito o estudo da alteração dos parâmetros colorimétricos das soluções hidroalcoólicas e dos vinhos na presença de madeiras por colorimetria. De ambos os métodos são obtidos valores CIELab que descrevem uma cor (L^* , a^* e b^*), a diferença encontra-se no modo como esses valores são obtidos. Em espectrofotometria, é feito o varrimento de todo o espectro da amostra. Nesta técnica o que é medido não é diretamente a absorvância mas sim quantidades de luz que passam através da amostra, e os valores CIELab não são obtidos por leitura direta dos dados recolhidos, requerendo um tratamento matemático posterior. Em colorimetria, como o nome indica, é feita a medição de uma cor, ou seja, esta técnica é utilizada para quantificar a cor de uma amostra por comparação com uma cor padrão da qual os valores L^* , a^* e b^* são conhecidos. A análise do colorímetro faz uso de comprimentos de onda fixos na gama do visível, a partir dos quais irá obter os valores CIELab, por medição direta da absorvância. Para o estudo por colorimetria foram usados dois procedimentos e dois equipamentos diferentes, como o descrito no procedimento experimental, com o fim de perceber qual descrevia melhor as características cromáticas das soluções por comparação com o método recomendado [42].

3.3.1 COLORIMETRIA – TÉCNICA 1

3.3.1.1 Soluções Hidroalcoólicas

A análise por colorimetria foi feita com um intervalo de 3 meses *a posteriori* das análises espectrofotométricas. Nos testes de colorimetria, recorrendo ao procedimento experimental descrito como **técnica 1**, foram registados valores de L^* muito inferiores aos obtidos por espectrofotometria, com se pode ver na Figura 3.22. Com esta técnica os valores registados variam entre os 34-42 para acácia, 36-42 para cerejeira, 27-40 para castanheiro e 27-36 para carvalho, o que são valores de todo diferentes quando comparados com os de espectrofotometria, onde encontrávamos

valores de L^* acima dos 85 (Figura 3.22). Por comparação com o estudo colorimétrico feito com os dominós, o qual foi realizado com um intervalo de tempo superior a 3 meses e tendo em conta que as SH ainda se encontravam na presença de madeiras, era de esperar que os valores de luminosidade registados por colorimetria fossem mais elevados e se assemelhassem mais aos valores das SH-dominós caso a cor apresentasse alguma mudança.

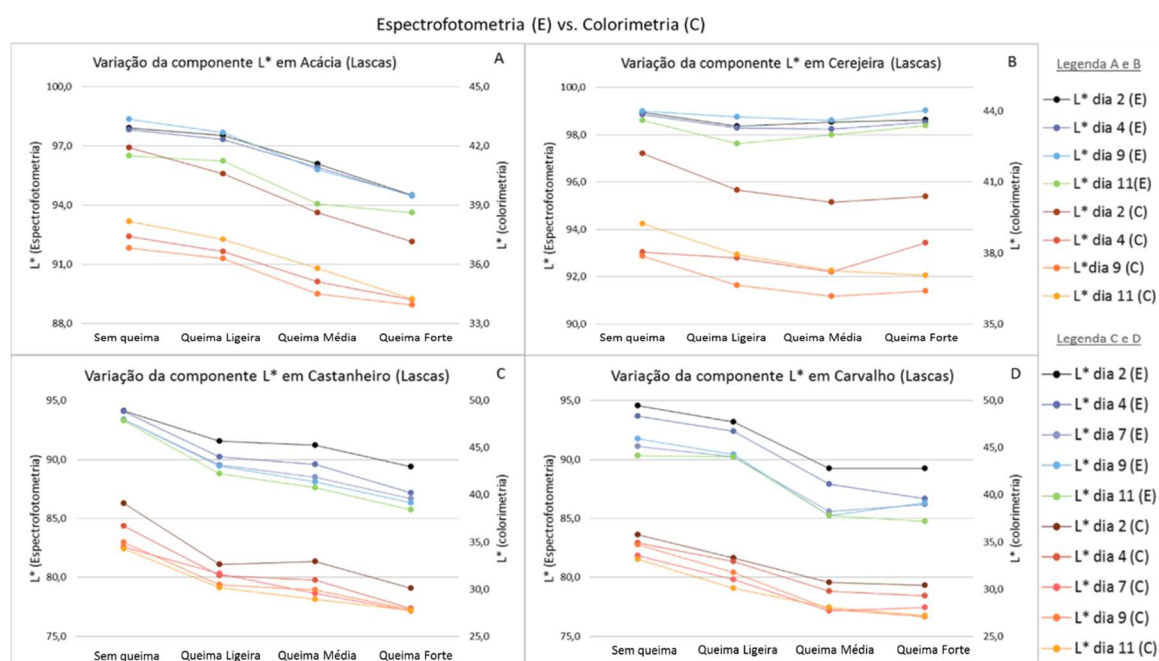


Figura 3.22 – Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L^* - anexo3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

Apesar dos valores serem distintos a variação entre eles assemelha-se bastante. Os dados recolhidos em ambas as técnicas mostram respostas semelhantes às variações das queimas das madeiras e ao decorrer dos dias. Na Figura 3.22 encontra-se representada a variação dos valores de L^* dos quatro tipos de madeira. Em tons de verde e azul podemos ver os dados recolhidos a partir de espectrofotometria e a vermelho e amarelo temos os dados de colorimetria. Olhando para os seus perfis, vemos que ambos os valores decrescem com o aumento do nível de queima e com o decorrer do tempo de experiência, ou seja, é nas amostras do dia 11 que o valor de L^* é menor.

O mesmo é observado nas figuras Figura 3.23 e Figura 3.24 onde se apresenta a variação das componentes a^* e b^* respetivamente. A componente a^* em colorimetria exhibe valores superiores ao de espectrofotometria. Mais uma vez as variações são semelhantes nos dois métodos mas os valores demonstram-se diferentes. Em espectrofotometria, a^* têm valores negativos o que indica que a solução possui mais componente verde e em colorimetria, os mesmos valores mostram-se positivos sendo por isso referentes a uma maior componente vermelha. Uma vez que os valores não são assim tão discrepantes, estas variações tanto se podem dever à natureza do método como à possibilidade de estabilização do teor polifenólico dando origem a outros compostos levando a uma coloração mais vermelha, não distinguível ao olho humano. Existem ainda alguns dados nas madeiras de carvalho e castanheiro que se encontram fora do perfil que seria esperado. Uma vez que esses dados são uma minoria podem-se dever a erros de leitura, a descalibração do aparelho ou ainda a interferências no meio por parte de alguma luminosidade exterior que possa ter incidido na amostra durante a leitura.

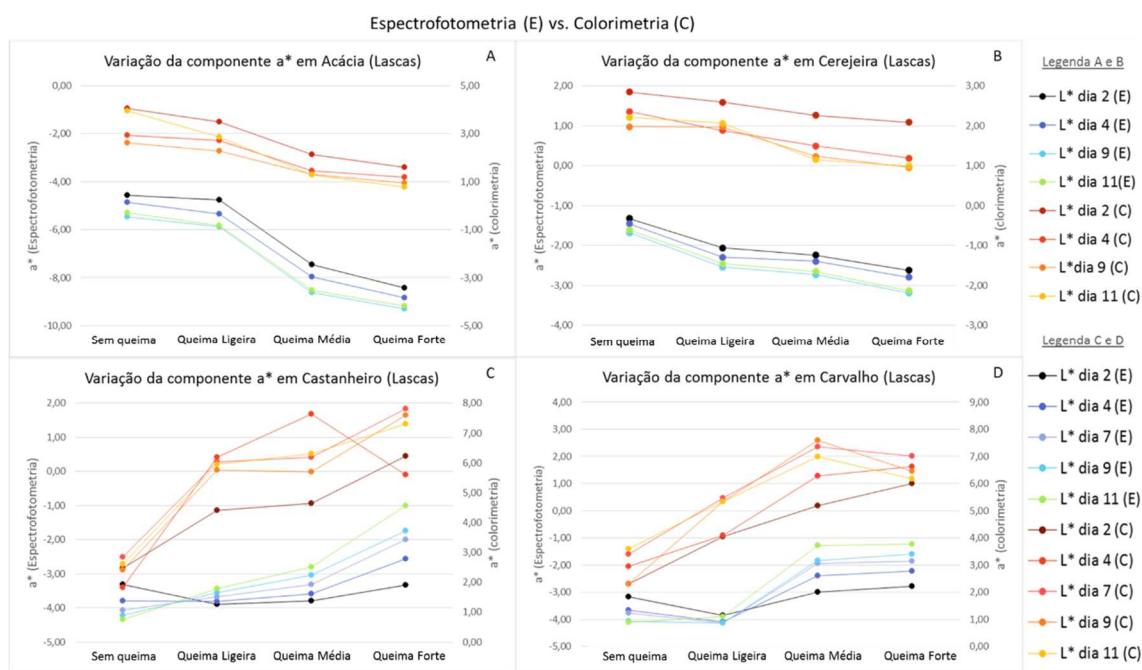


Figura 3.23 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a^* - anexo3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

Nos perfis da componente amarelo/azul (Figura 3.24) os valores são muito diferentes entre métodos. A evolução entre grau de queima em espectrofotometria é muito superior podendo variar das 10 unidades às 50 enquanto a registada em colorimetria varia entre 8 e 20, havendo uma grande discrepância entre os valores lidos nos dois métodos. Os valores lidos nas madeiras sem queima, de modo geral, são semelhantes mas em queimas mais altas os valores diferem muito. Quanto ao perfil, de acácia e cerejeira são consideravelmente idêntico apesar das diferenças entre valores mas em castanheiro e carvalho o mesmo já não é tão fácil de verificar. Foi ainda feito o mesmo tipo de estudo com as soluções de dominós, mas como os resultados possuíam as mesmas deduções retiradas das amostras com aparas, os valores e gráficos referentes a essas soluções são apenas apresentadas em anexo (Anexo 3).

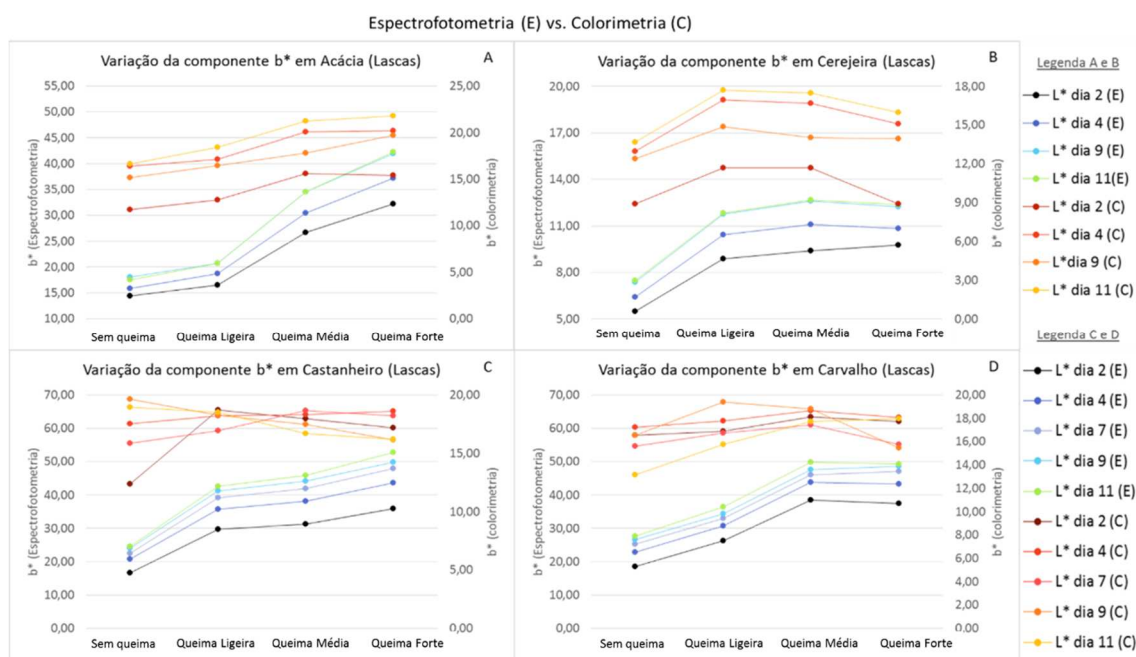


Figura 3.24 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b^* - anexo3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

3.3.1.2 Vinhos

É nos vinhos que as principais diferenças entre a espectrofotometria e a colorimetria são mais notórias uma vez que a matriz vinho, ao contrário das soluções hidroalcoólicas, já foi várias vezes abordado na literatura e os valores CIELab típicos conhecidos.

Também nos vinhos, os valores CIELab recolhidos por colorimetria, em geral apresentaram as mesmas variações nas madeiras analisadas registadas por espectrofotometria mas os seus valores absolutos são muito diferentes. Recorrendo à bibliografia vemos que os valores de L^* por colorimetria são muito diferentes do que é esperado num vinho branco que é de 79,2 a 80,8 (Figura 3.25). Nos vinhos tintos (Figura 3.26) os valores de luminosidade já não estão tão inadequados à realidade, sendo que, são um pouco baixos para o normal que é de 24,1 a 37,3. Em ambos os vinhos os valores de a^* são inferiores por colorimetria registando valores negativos nos vinhos brancos. A componente b^* nos vinhos brancos tem valores parecidos em ambos os métodos elevando apenas um pouco o seu valor por colorimetria. Nos vinhos tintos a mesma variável não se mostra nada concordante com espectrofotometria ou com a literatura, exibindo valores negativos. Todas estas diferenças nos valores entre o método de colorimetria e o de espectrometria/literatura, sugerem que a técnica 1 e/ou procedimento experimental, não é o mais adequado para a avaliação das matrizes usadas neste trabalho, mostrando-se frágil para a sua descrição [41].

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

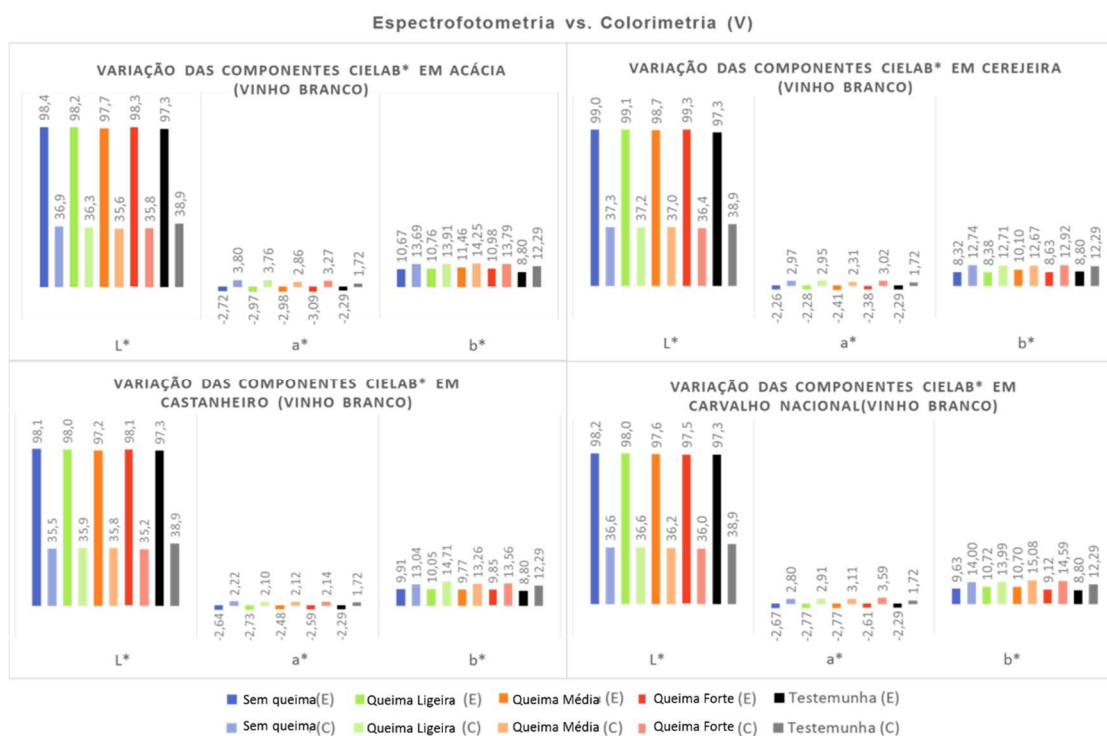


Figura 3.25 - Comparação dos resultados CIELab de vinho branco obtidos por espectrofotometria (E) e por colorimetria-tecnica1 (C)

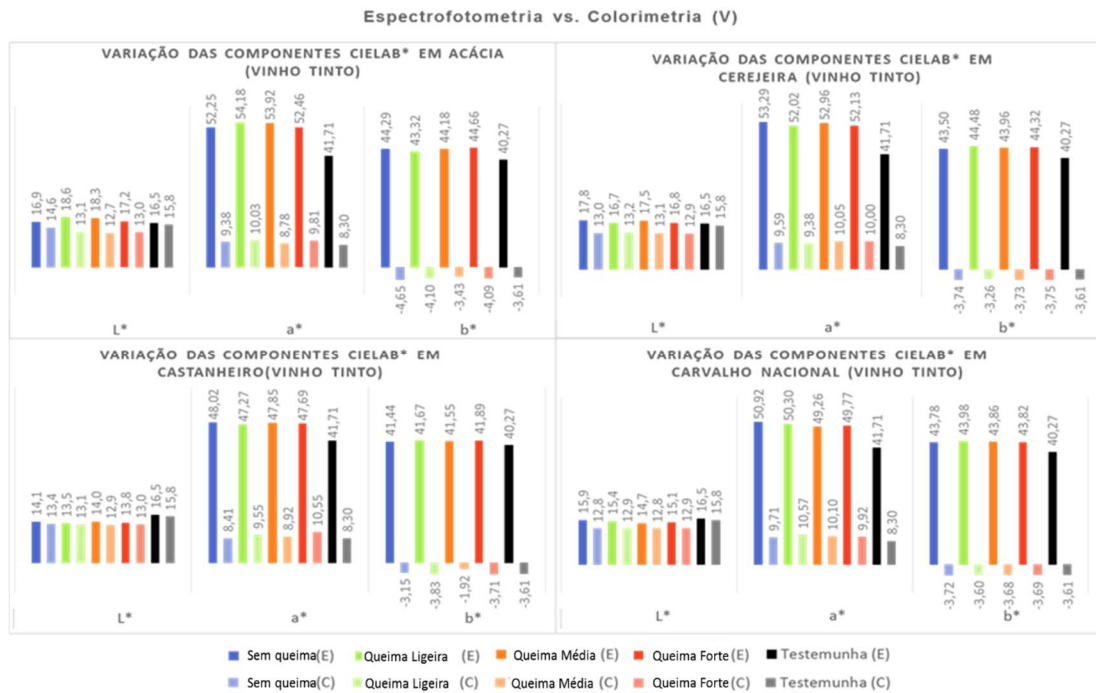


Figura 3.26 - Comparação dos resultados CIE Lab de vinho tinto obtidos por espectrofotometria (E) e por colorimetria-técnica1 (C)

O método colorimétrico feito segundo a técnica 1 mostrou-se correlacionável com os perfis entre grau de queima e ao longo dos dias tanto nas soluções hidroalcoólicas como nos vinhos mas não mostrou ser um bom descritor da cor para os mesmos. Quando comparamos os valores de colorimetria nos vinhos com os que são encontrados na literatura vemos que estes não são coerentes. Poder-se-ia contudo melhorar a técnica fazendo com que o suporte fosse mais assertivo no encaixe da cabeça de leitura e uniforme no seu *background* e garantido o abrigo da luz total que pode nem sempre ter sido totalmente garantida.

3.3.2 COLORIMETRIA – TÉCNICA 2

No presente trabalho foi ainda realizada outra técnica de avaliação da cor por colorimetria descrita no procedimento como **técnica 2**. Esta segunda experiência foi realizada com o intuito de comparar os resultados obtidos pelos dois colorímetros e tentar perceber qual das técnicas era a melhor como descritora de uma cor. Como já se esperava pelos resultados obtidos a partir da **técnica 1**, a segunda técnica também não se mostrou ideal para descrever a cor do vinho ou das soluções hidroalcoólicas.

Nas figuras Figura 3.27, Figura 3.28 e Figura 3.29 temos a comparação entre o método anteriormente discutido e a **técnica 2**. Esta segunda técnica mostrou-se ser muito menos rigorosa. Aparentemente não apresenta nenhuma semelhança nem com os resultados de espectrofotometria nem com os de colorimetria – técnica 1, para além de que os dados recolhidos são difíceis de interpretar comparativamente com os recolhidos pelos métodos anteriores. A ausência de um perfil como o notado nas restantes técnicas pode deve-se ao facto de esta técnica estar muito mais sujeita a variações da luz exterior. Como o suporte de amostra utilizado foi uma placa de Petri que se colocou sobre o aparelho de leitura e sendo o fundo de leitura a sala, as variações de luz que ocorreram aparentam ter influenciado os dados recolhidos, provocando as irregularidades notadas.

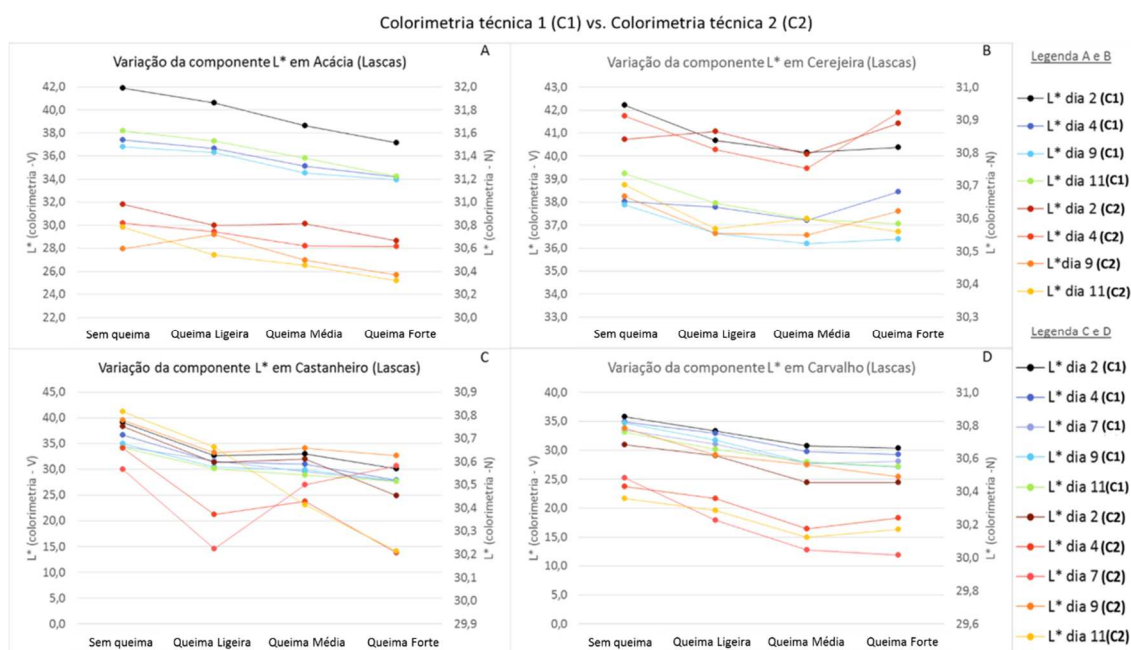


Figura 3.27 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L* - anexo 3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

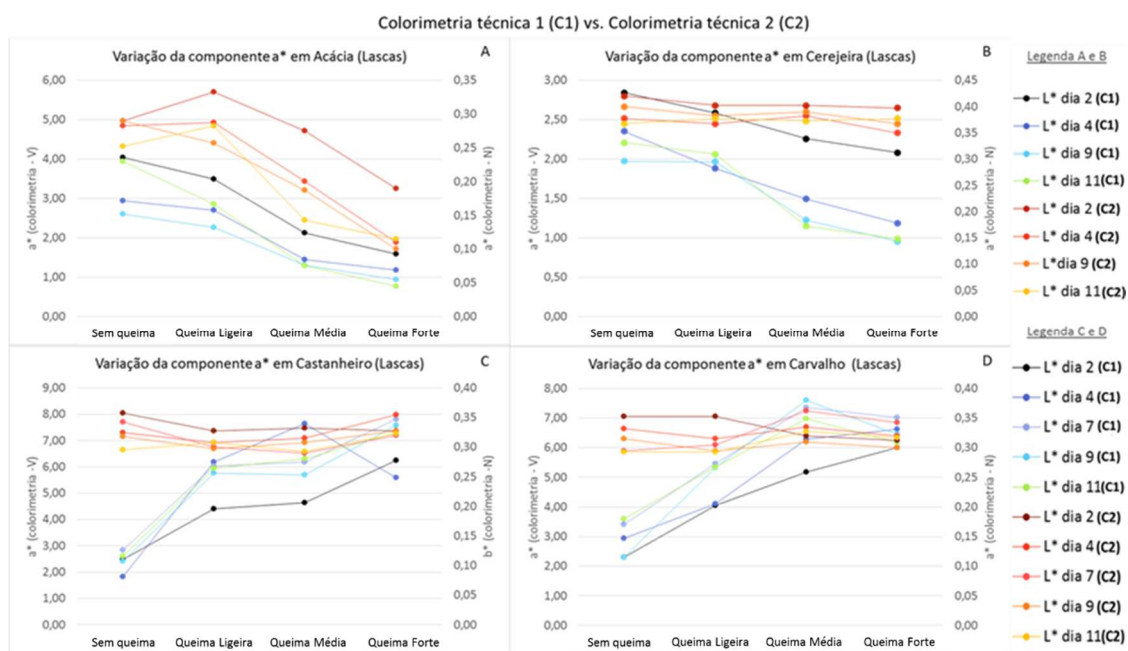


Figura 3.28 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a* -anexo 3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

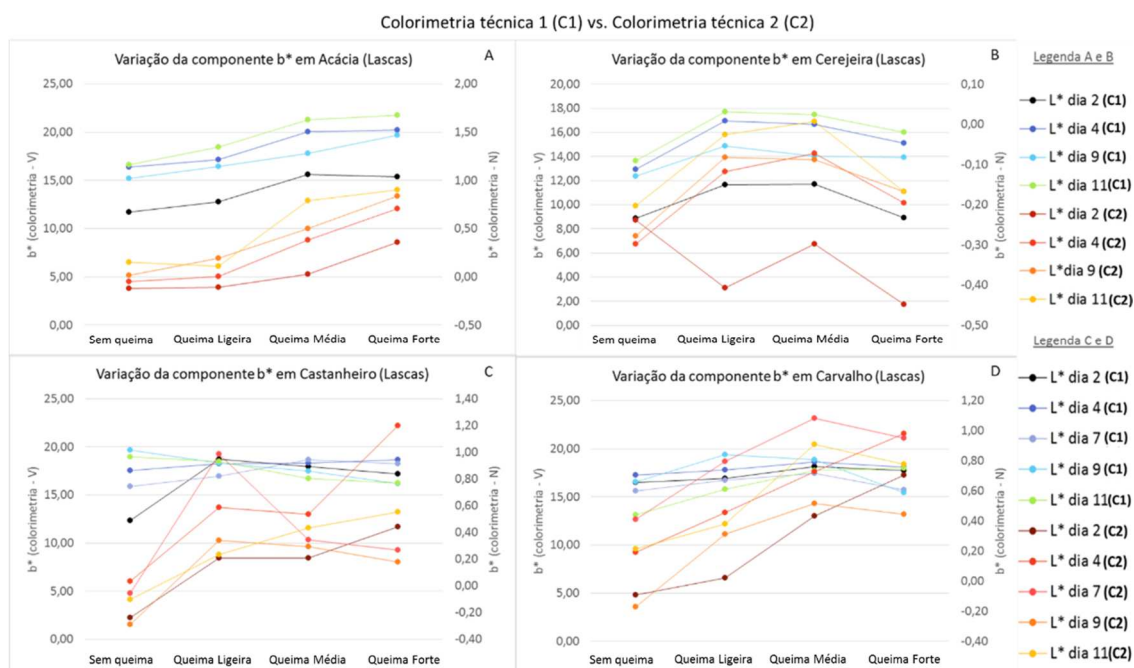


Figura 3.29 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b* -anexo 3. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

3.4 COMPOSTOS VOLÁTEIS

Como complemento para o trabalho desenvolvido foi ainda feito um estudo dos voláteis cedidos pelas madeiras para os vinhos e para algumas soluções hidroalcoólicas por cromatografia gasosa. Foram usadas apenas as soluções hidroalcoólicas do dia 2 e do dia 9. Foram estudados as SH destes dois dias por corresponderem ao primeiro dia de recolha de amostra e o dia no qual se assumiu não existirem alterações significativas nos compostos cedidos pelas madeiras, respetivamente. Este estudo não pretende ser exaustivo e tenciona-se apenas identificar alguns dos principais compostos que se apresentam nos vinhos em presença das madeiras.

3.4.1 *VARIAÇÕES COM GRAU DE QUEIMA*

Dando início ao estudo dos compostos voláteis começou-se por analisar o que acontece com as soluções hidroalcoólicas na presença das madeiras com diferentes graus de queima. Este estudo serve essencialmente para identificar as substâncias voláteis capazes de serem cedidas pelas diferentes madeiras e como tal foi realizado apenas com as soluções hidroalcoólicas do dia 9. Os cromatogramas obtidos são bastante complexos na sua quantidade de compostos e por isso irão ser só identificados alguns dos maiores picos correspondentes à listagem apresentada na Tabela 3.2 e posteriormente feita a pesquisa de alguns compostos chave referidos na literatura apenas para verificar a sua presença e evolução com a queima [43].

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e
subsequentes características colorimétricas

Tabela 3.2 – Identificação dos compostos presentes nas madeiras

#	Nome	Tempo de retenção (minutos)	Índice de retenção (Experimental)	Índice de retenção (Literatura) [ref]
1	Furfural	3,685	829	828 [44]
2	Etilbenzeno	4,149	857	858 [45]
3	Propionato de isobutilo	4,265	863	863 [46]
4	Hexanol	4,309	866	863 [44]
5	Propionato de Butilo	5,004	906	907 [44]
6	Isobutirato de Isobutilo	5,123	912	908 [44]
7	Dissulfureto de dietilo	5,279	920	916 [47]
8	5-metil furfural	6,038	957	957 [44]
9	Benzaldeído	6,087	960	952 [44]
10	Butanoato de butilo	6,767	993	993 [44]
11	2-hexenil acetato	7,000	1004	1010 [44]
12	2-etil hexanol	7,484	1027	1032 [48]
13	Eucaliptol	7,555	1030	1026 [44]
14	Acetofenona	8,25	1063	1059 [44]
15	2-Nonanol	9,01	1098	1097 [44]
16	Nonanal	9,071	1101	1100 [44]
17	Butanoato de hexilo	9,956	1143	1191 [44]
18	Creosol	10,842	1185	1190 [49]
19	trans-5-butil 4-metil 2-tetrahidrofuranona	12,82	1282	1292 [50]
20	Desconhecido	13,25	1304	SI
21	cis-5-butil 4-metil 2-tetra-hidrofuranona	13,465	1315	1325 [50]
22	Ácido dodecanoico	17,88	1560	1565 [44]

SI - Sem Informação

A Figura 3.30 ilustra os cromatogramas de acácia com os diferentes graus de queima com a respetiva identificação dos picos. Neste cromatograma foram identificados 18 picos entre os quais se encontram alguns dos compostos descritos na

literatura como é o caso do furfural, 5-metil furfural e alguns ácidos gordos saturados. É ainda possível detetar o propionato de isobutilo e o eucaliptol. Estes compostos apresentam um aroma intenso e são conhecidos pelo seu aroma a banana e a eucalipto, respetivamente [43,51-53].

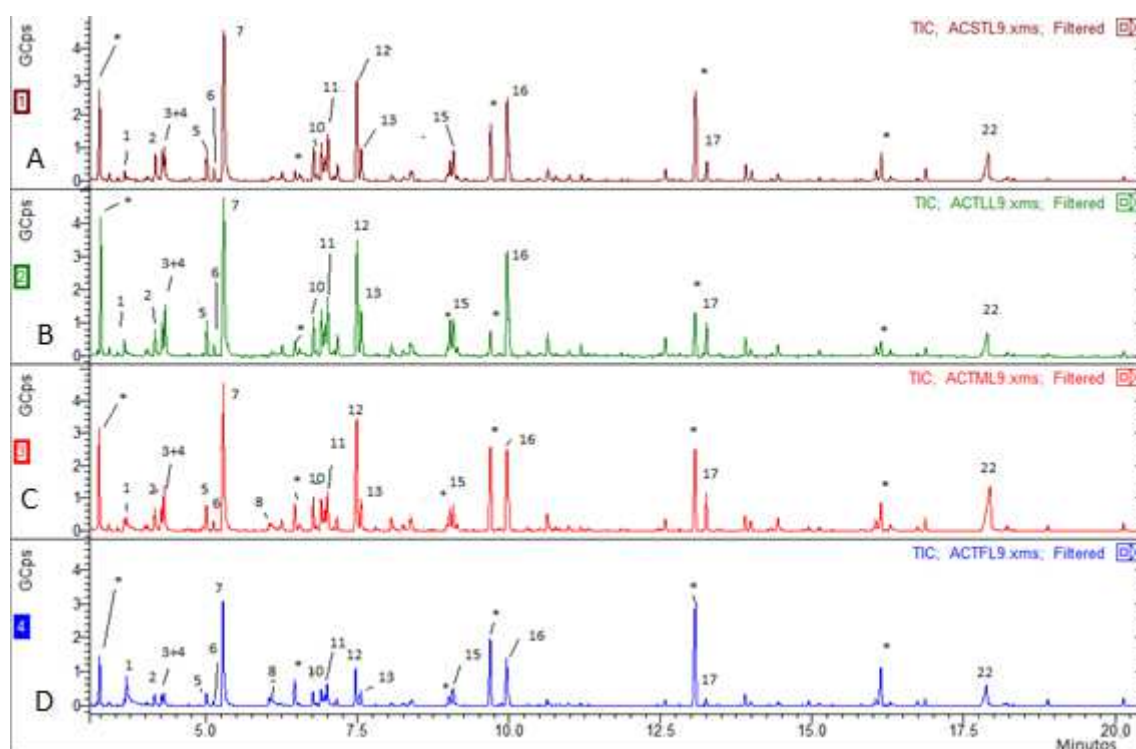


Figura 3.30 – Cromatograma de GC/MS das SH da madeira de acácia. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte, (*)siloxanos; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2.

Com aumento da queima pode observar-se um acréscimo dos picos correspondentes a compostos como o furfural e alguns dos seus derivados devido à degradação térmica dos polissacáridos das madeiras. Era esperado que se observassem mais ácidos gordos de tamanho de cadeia entre C_2 a C_{12} que não foram detetados com as condições experimentais usadas. Quando se extraem os iões $m/z=60$ e $m/z=73$ característicos destes ácidos, muitos deles surgem junto dos picos correspondentes aos siloxanos resultantes do sangramento da coluna cromatográfica, não sendo por isso possível a sua identificação inequívoca (o ião $m/z=73$ é comum aos siloxanos referidos) [43].

Na Figura 3.31 é apresentada a análise cromatográfica por GC/MS correspondente à cerejeira. Muitos dos compostos são parecidos aos de acácia mas o furfural e os seus derivados não foram detetados. Há no entanto maior conteúdo de ésteres o que indica aroma frutado intenso característico de ésteres. Na cerejeira deteta-se o composto 21 que pode ser vista como uma peculiaridade que não foi observada em acácia uma vez que é uma lactona que caracteriza o odor a *whisky*. Esta molécula é formada a partir dos lípidos existentes nas madeiras e é muito apreciada no vinho por lhe conferir um sabor muito característico a madeira e coco e intensifica o seu aroma a baunilha tornando o produto mais interessante sensorialmente [54,55].

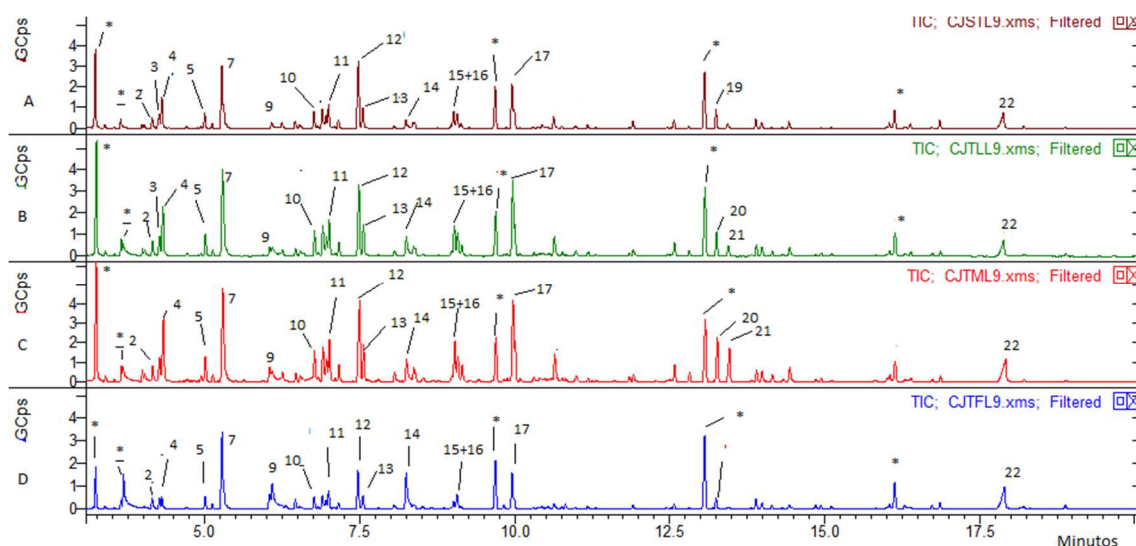


Figura 3.31– Cromatograma de GC/MS das SH da madeira de cerejeira. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte. (*)siloxanos; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2

O cromatograma de GC/MS referente à espécie botânica de castanheiro (Figura 3.32) é o menos complexo das três madeiras. Apesar de não ser possível a identificação de tantos compostos, as principais substâncias que eram expectáveis encontram-se presentes. Castanheiro em todas as soluções com madeiras com queima apresenta um composto chamado creosol ou 4-metilguaiacol (pico 18). Esta substância é conhecida pelo seu aroma e sabor a queimado. Num vinho, é capaz de transmitir a sensação de torrefação no mesmo [56].

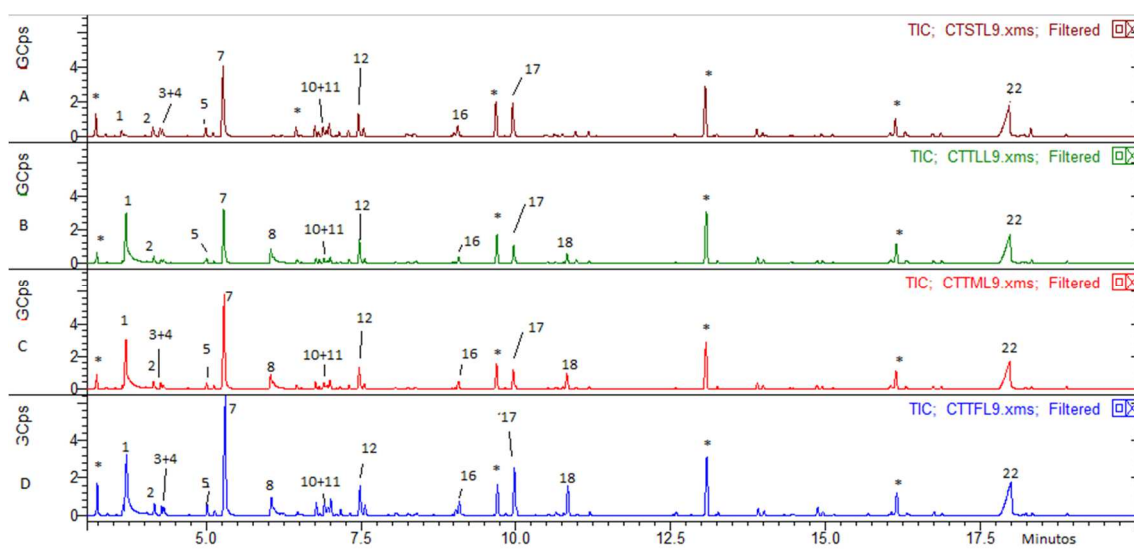


Figura 3.32 - Cromatogramas de GC/MS das SH da madeira de castanheiro. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte. (*)Siloxano; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2

Na Figura 3.33 está representado o perfil cromatográfico de GC/MS referente à SH contendo madeira de carvalho. Esta madeira mostra muitas semelhanças com a de cerejeira em termos de composição volátil mas é possível ver os derivados do furfural a alterarem com o grau de queima. Esta madeira é a de excelência para o vinho e a por norma utilizada. Com carvalho foi possível detetar as duas formas isoméricas da lactona do whisky (cis e trans), o que pode ser um indicativo que será mais rica neste composto realçando outros sabores no vinho para além dos que já haviam sido mencionados.

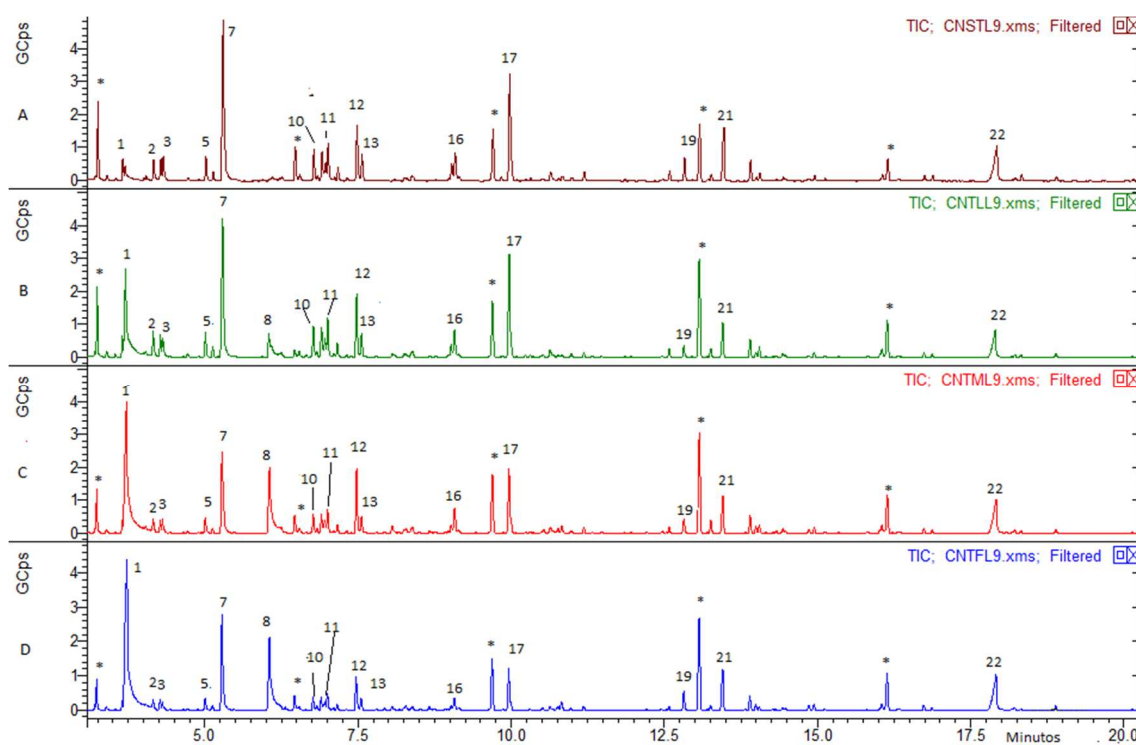


Figura 3.33- Cromatogramas de GC/MS dos extratos da madeira de Carvalho Nacional. (A)-sem queima; (B)-queima ligeira; (C)-queima média; (D)- queima forte. (*)siloxanos; Identificação dos picos segundo a Tabela 3.2

3.4.2 VARIAÇÕES COM OS DIAS

Para fazer o estudo das alterações entre soluções do dia 2 para o dia 9 fez-se uso dos cromatogramas apenas com a madeira de queima média. Os restantes cromatogramas encontram-se em anexo (Anexo 4), por não fazer sentido no âmbito deste trabalho a análise pormenorizada de todos eles.

De um modo geral em todos os gráficos apresentados nas figuras Figura 3.34 e Figura 3.35, a principal diferença entre o dia 2 e o dia 9 é a intensidade dos picos podendo-se concluir que a quantidade de compostos voláteis transferidos para as soluções é crescente ao longo dos dias.

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

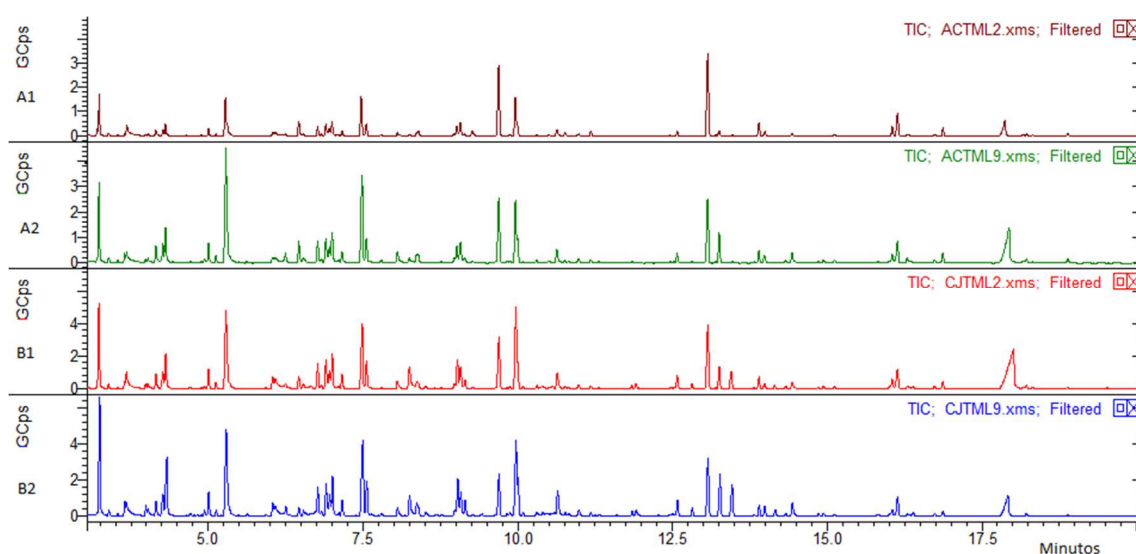


Figura 3.34 – Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) com queima média no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

Nos cromatogramas obtidos, poderá haver alguma diferença em termos de composição volátil mas não se mostra notória, na resposta apresentada pelos compostos maioritários, na análise dos perfis, não sendo de assinalar nenhuma alteração significativa nos perfis cromatográficos das madeiras.

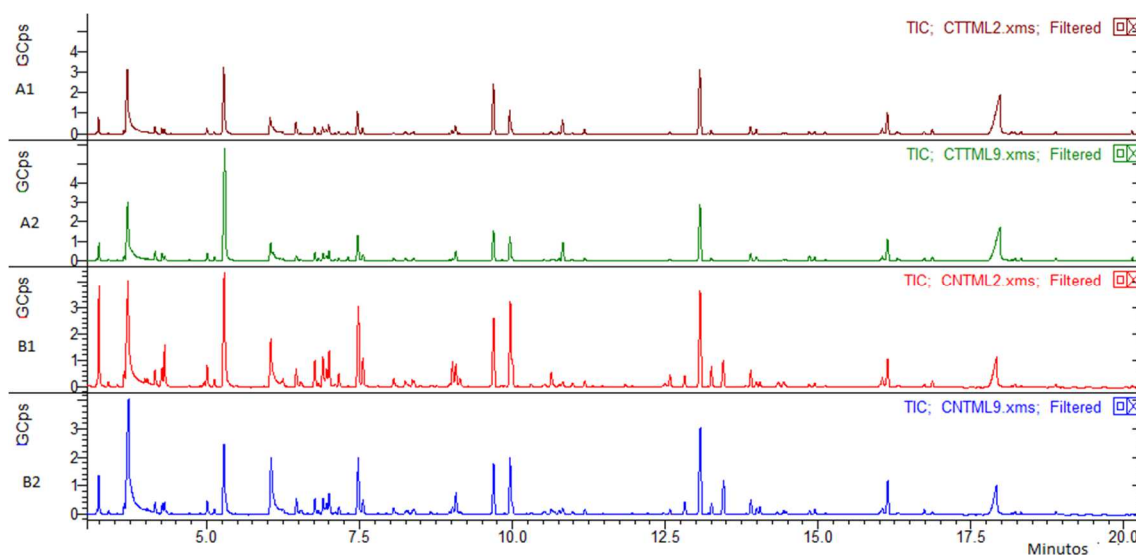


Figura 3.35 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) com queima média no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

3.4.3 ALTERAÇÕES NOS VINHOS

Neste trabalho analisaram se as alterações nos vinhos em comparação com o vinho testemunha e tentou-se compreender se essas alterações poderiam ser devidas às madeiras, analisando a sua composição e se existiriam correlações com os compostos das soluções hidroalcoólicas do dia 9. Na Figura 3.36 e Figura 3.37 encontram-se representados os cromatogramas de GC/MS referentes ao vinho branco e ao vinho tinto com testemunha e dos quatro vinhos em presença das madeiras com queima média, pois é o nível de queima de principal interesse sendo o mais utilizado comercialmente.

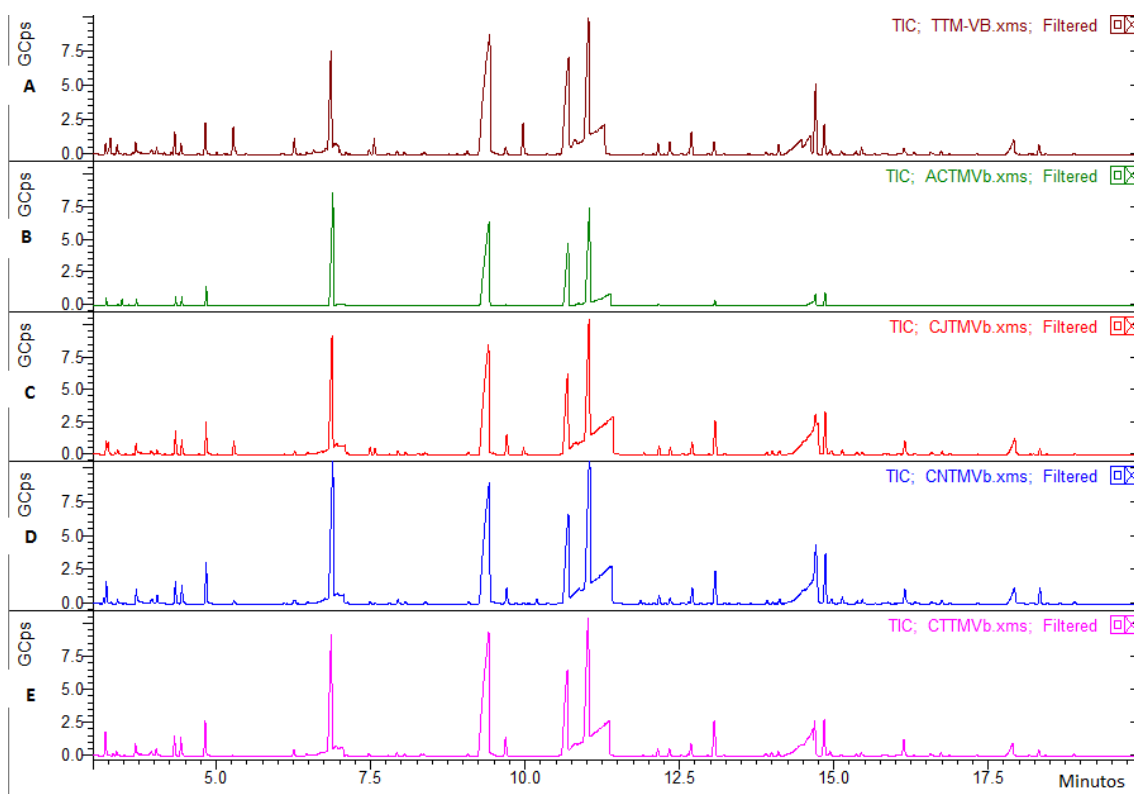


Figura 3.36 - Perfil cromatográfico de GC/MS dos vinhos brancos, (A) Vb-Testemunha; (B) Vb- Acácia queima média; (C) Vb-Cerejeira queima média (D) Vb-Carvalho queima média (E) Vb-Castanheiro queima média

Nos cromatogramas obtidos não foi possível detetar diferenças na composição qualitativa entre a testemunha e o vinho com madeira com o método utilizado. A baixa concentração de madeira relativamente ao volume de vinho e o aroma intenso da própria bebida podem estar na origem da dificuldade em encontrar algumas alterações

em compostos minoritários que eventualmente poderiam influenciar a composição volátil dos vinhos com madeiras.

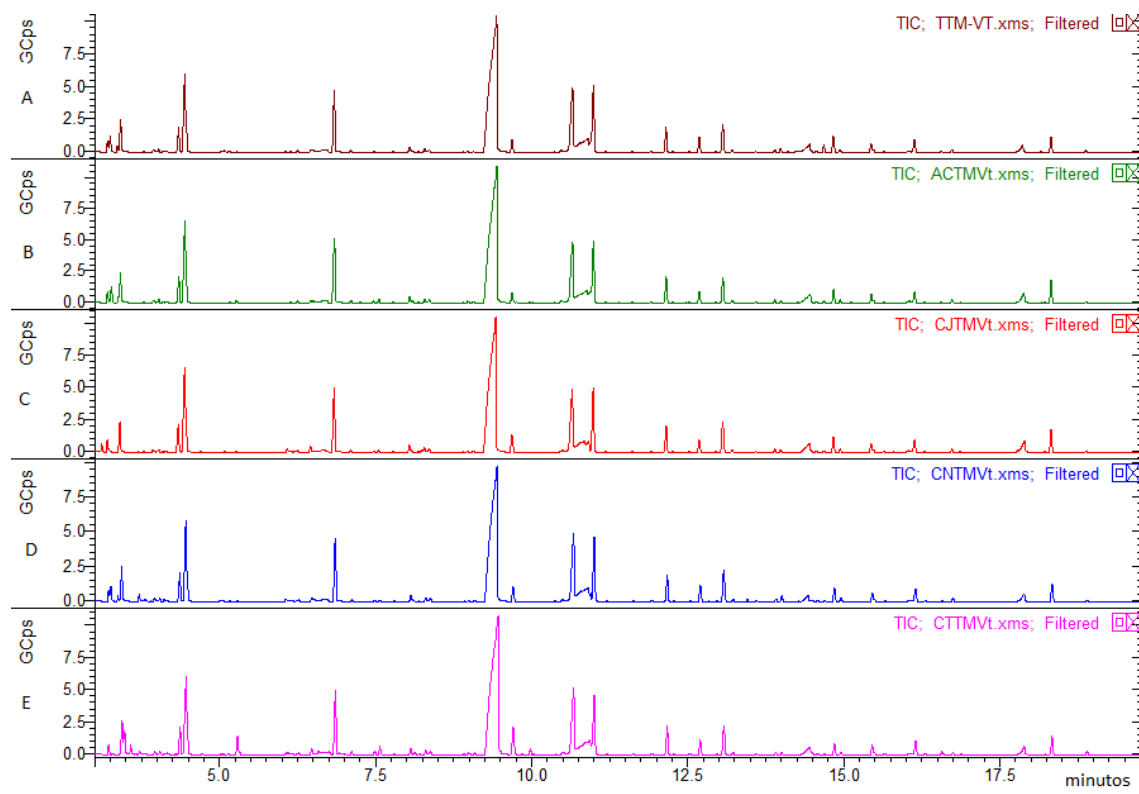


Figura 3.37 - Perfil cromatográfico de GC/MS dos vinhos tinto. (A) Vt-Testemunha; (B) Vt- Acácia queima média; (C) Vt-Cerejeira queima média (D) Vt-Carvalho queima média (E) Vt-Castanheiro queima média

4 Conclusão

Uma das características primárias a ser avaliada no vinho é a sua cor. Este atributo está relacionado com os polifenóis do meio. Nas amostras de soluções hidroalcoólicas analisadas, estudou-se a cinética de extração dos polifenóis totais cedidos para o meio vindo das madeiras ao longo dos dias. Deste estudo foi possível concluir que a grande maioria dos polifenóis provenientes das madeiras com morfologia em aparas eram transferidos para as soluções durante os dois primeiros dias de experiência e a partir desse momento apresentavam um perfil crescente mas muito mais ténue que nos anteriores dias. A madeira com mais capacidade de ceder compostos para o meio hidroalcoólico é a madeira de castanheiro sem queima, seguida de carvalho, acácia e cerejeira com queimas. Constatou-se ainda que a morfologia da madeira também influencia a difusão dos polifenóis no meio, uma vez que com os dominós, as madeiras, para cederem uma quantidades semelhantes necessitaram de um período de tempo consideravelmente maior. Os vinhos analisados, tintos e brancos, demonstraram que quando em contacto com as madeiras, enriquecem o seu teor fenólico. Este enriquecimento não é feito de modo uniforme, quando comparado com as soluções hidroalcoólicas de aparas, dependendo da natureza da madeira e das interações destas com os compostos existentes no meio. O estudo pormenorizado das antocianinas e dos taninos do meio poderia ser uma mais-valia como complemento desta análise vindo a servir como indicador discriminatório de possíveis interações e mudanças em termos de complexos formados.

No estudo evolutivo das características cromáticas das soluções hidroalcoólicas de aparas por espectrofotometria o que se observou, foi uma diminuição com o grau de queima e com o tempo das variáveis L^* e a^* e um acréscimo no valor de b^* , à exceção de castanheiro e carvalho que mostram uma resposta diferente apenas em a^* registando um acréscimo nestes valores. Em termos colorimétricos, a madeira em dominós cede ao meio características semelhantes às aparas, mas tal como no estudo dos polifenóis, a obtenção destas características com esta morfologia de madeira é mais lenta. Nos vinhos brancos, as madeiras aclaram a sua matriz e enriquecem-nos na componente amarela. Nos tintos, a luminosidade sofre uma diminuição mas a sua componente amarela e vermelha é aumentada. Estas variações registadas na coloração

dos vinhos são atribuídas ao enriquecimento polifenólico e estão de acordo com o que se observa a partir das soluções hidroalcoólicas. Os polifenóis irão incitar à existência de novas reações de estabilização dos vinhos e daí advêm as alterações colorimétricas.

Foram feitos ainda estudos complementares por colorimetria com o intuito de perceber se existiriam outras técnicas capazes de serem aplicadas na interpretação e descrição da coloração dos vinhos. Para estes estudos utilizaram-se duas técnicas distintas mas nenhuma delas se mostrou uma descritora suficientemente adequada à matriz em causa. A técnica 1 poderia ser viável uma vez que apresentava um perfil comparável com os obtidos por espectrofotometria mas seria necessário o aperfeiçoamento das condições experimentais (sala de amostragem adequada) em particular do suporte de amostra. Na técnica 2 os resultados obtidos revelaram-se de difícil compreensão devido ao procedimento experimental utilizado e por serem fortemente influenciados pelo meio envolvente (luminosidade exterior).

Como última abordagem foi feito o estudo dos compostos voláteis. Neste estudo foram identificados 22 compostos cedidos pelas madeiras. Nas madeiras de cerejeira e carvalho foi encontrada a lactona do *whisky* que é capaz de conferir ao vinho aromas baunilhados e frutados de cocô.

Em termos gerais, com o que foi possível observar, a madeira de cerejeira mostrou-se bastante interessante no global do estudo em particular com queima ligeira e média. Apesar de não apresentar um perfil polifenólico nas soluções hidroalcoólicas muito acentuado, a sua influência no mesmo teor, em presença do vinho (tinto) é bastante forte. Na cor dos vinhos as alterações induzidas são comparáveis às restantes madeiras apesar de mais atenuadas, dando ao vinho características colorimétricas mais jovens apesar de existir uma evolução significativa em termos fenólicos. Também no seu conteúdo volátil, esta madeira, é interessante fornecendo ao vinho aromas semelhantes aos transmitidos pelo carvalho utilizado habitualmente na produção de vinho.

5 Bibliografia

- [1] Cardeira R., "Factores Críticos de Sucesso no Mercado do Vinho em Portugal e a Sustentabilidade do Sector Vitivinícola", *IST*, 2009.
- [2] "Penn Museum - Prehistoric China,"
http://www.penn.museum/sites/biomoleculararchaeology/?page_id=247.
[Acedido em dezembro 2014].
- [3] Rosado A., "Evolução de Parâmetros Físicos, Químicos e Controlo Microbiológico em Vinhos Brancos e Tintos da Adega Cooperativa de Palmela", *FCT-UNL*, 2013.
- [4] "InfoVini," <http://www.infovini.com/classic/index.php>. [Acedido em dezembro 2014].
- [5] Robinson J. , "The Oxford companion to Wine", Oxford University Press, 2006.
- [6] International Organisation of Vine and Wine, "Punto de coyuntura vitivinícola mundial," em *Congreso Mundial de la Viña y el Vino*, 2014.
- [7] Instituto da Vinha e do Vinho, I.P., "Vinhos e Aguardentes de Portugal," *Anuario 2014*, pp. 49-74, 2014.
- [8] "Winesur," <http://winesur.com/news/the-most-wine-consuming-countries>.
[Acedido em maio 2015].
- [9] International Organisation of Vine and Wine, "Coyuntura vitivinícola mundial: evoluciones y tendencias," Paris, 2015.
- [10] "Produção do setor do vinho abre-se para novos viticultores em 2016,"
<http://www.consagra.pt/>. [Acedido em Junho 2015].
- [11] Boulton R., Singleton V., Bisson L. e Kunkee, R., "Principles and Practices of Winemaking", Springer Science & Business Media, 2013.
- [12] "Winefolly," <http://winefolly.com/tutorial/wine-color-chart/>. [Acedido em Setembro 2015].
- [13] Comissão Europeia, "REGULAMENTO (CE) N.º 606/2009 - Categorias de produtos vitivinícolas, às práticas enológicas e às restrições que lhes são aplicáveis," *Jornal oficial da União Europeia*, vol. 193, pp. 1-59, 2009.

- [14] Garde-Cerdán T. e Ancín-Azpilicueta A., “Review of quality factors on wine ageing in oak barrels,” *Trends in Food Science & Technology*, vol. 17, pp. 438–447, 2006.
- [15] Chatonnet P., Boidron J. N., Dubourdieu D. e Pons M., “Evolution de certains composés volatils du bois de chêne au cours de son séchage,” *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, vol. 28 (4), pp. 359–380, 1994.
- [16] Waterhouse A. L., “Wine Phenolics,” *New York Academy of Sciences*, vol. 957, pp. 21–36, 2002.
- [17] Remy S., Fulcrand H., Labarbe B., Cheynier V. e Moutounet M., “First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin–tannin reactions,” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 80, pp. 745–751, 2000.
- [18] Brouillard R., George F. e Fougèrouse A., “Polyphenols produced during red wine ageing,” *IOS Press - BioFactors*, vol. 6, pp. 403–410, 1999.
- [19] Valdantas S., “Capacidade antioxidante e compostos fenólicos de madeiras com uso enológico: influência do grau de queima,” *UE*, 2013.
- [20] Bain G., “Wine Color Analysis using the Evolution Array UV-Visible Spectrophotometer,” *Thermo Fisher Scientific*, 2009.
- [21] International Organisation of Vine and Wine, “Determination of chromatic characteristics according to CIELab,” 2006.
- [22] Ashik M., Khan I., Ueno K., Horimoto S., Komai F., Someya T., Inoue K., Tanaka K. e Ono Y., “CIELAB color variables as indicators of compost stability” *Waste Management*, vol. 29, pp. 2969–2975, 2009.
- [23] Gil-Munoz R., Gomez-Plaza E., Martínez A. e Lopez-Roca J., “Evolution of the CIELAB and other spectrophotometric parameters during wine fermentation. Influence of some pre and postfermentative factors,” *Elsevier Science*, vol. 30 (9), pp. 699–705, 1997.
- [24] Soares B., Gracia R., Freitas A. e Cabrita M., “Phenolic compounds released from oak, cherry, chestnut and robina chips into a synthetic wine: Influence of tasting level,” *Ciência e Técnica Vitivinícola*, vol. 27 (1), pp. 17–26, 2012.
- [25] Enartis, “Catalogo de affinamento e estabilização,” 2012.

- [26] International Organisation of Vine and Wine, "Overall Determination of Phenolic compounds in spirituous beverages of vitivinicultural origin without added caramel," 2009.
- [27] Blainski A., Lopes G. e Palazzo de Mello J., "Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L.," *Molecules*, vol. 18, pp. 6852-6865, 2013.
- [28] Konica Minolta, "Chroma meter CR400/410- manual," <http://sensing.konicaminolta.us/products/cr-410-chroma-meter-difference-with-colorimeter/>. [Acedido em Maio 2015].
- [29] Rocha S., Ramalheira V., Barros A., Delgadillo I. e Coimbra M., "Headspace Solid Phase Microextraction (SPME) Analysis of Flavor Compounds in Wines. Effect of the Matrix Volatile Composition in the Relative Response Factors in a Wine Model," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, pp. 5142-5151, 2001.
- [30] EST Laboratories, "Wine Color Analysis," 2013.
- [31] Lorrain B., Ky I., Pechamat L. e Teissedre P., "Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines and Extracts," *Molecules*, vol. 18, pp. 1076-1100, 2013.
- [32] Oliveira A., Valentim I., Goulart M., Silva C., Bechara E. e Trevisan M., "Fontes vegetais naturais de antioxidantes," *Química nova*, vol. 32 (3), pp. 689-702, 2009.
- [33] "WineMaker - Tannin Chemistry: Techniques," <https://winemakermag.com/1045-tannin-chemistry-techniques>. [Acedido em Agosto 2015].
- [34] Khanbabaee K. e Ree T., "Tannins: Classification and definition" *Natural Product Reports*, vol. 18, pp. 641-649, 2001.
- [35] Psarra C., Gortzi O. e Makris D., "Kinetics of polyphenol extraction from wood chips in wine model solutions: effect of chip amount and botanical species," *The Institute of Brewing & Distilling*, vol. 121, pp. 207-212, 2015.
- [36] Stratil P., Kubán V. e Fojtává J., "Comparison of the Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Wines as Determined by Spectrophotometric Methods," *Journal of Food Science*, vol. 26 (4), pp. 242-253, 2008.

- [37] Tech G., "Chemical Composition of Wood," http://www.ipst.gatech.edu/faculty/ragauskas_art/technical_reviews/chemical%20overview%20of%20wood.pdf. [Acedido em Agosto 2015].
- [38] Yaa F., Wua Q., Leia Y., Guob W. e Xu Y., "Thermal decomposition kinetics of natural fibers: Activation energy with dynamic thermogravimetric analysis," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 93, pp. 90-98, 2008.
- [39] Zori Z., Uzelac V., Pedisic S., Kurtanjek Z. e Garofulic I., "Kinetics of the Degradation of Anthocyanins, Phenolic Acids and Flavonols During Heat Treatments of Freeze-Dried Sour Cherry Marasca Paste," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 51 (1), pp. 101–108, 2014.
- [40] Koo B., Park N., Jeong H., Choi J., Yeo H. e Choi I., "Characterization of by-products from organosolv pretreatments of yellow popular wood (*Liriodendron tulipifera*) in the presence of acid and alkali catalysts," *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 17, pp. 18-24, 2011.
- [41] Oliveira L., Souza S. e Mamede M., "Evaluation of physicochemical and colorimetric characteristics of fine wines from two main vineyards regions," *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, vol. 70 (2), pp. 158-167, 2011.
- [42] Leahy I., "Introduction to Colorimetry, Photometry and Spectrophotometry," 1.01, 2012.
- [43] Caldeira I., Clímaco M., Sousa B. e Belchior A., "Volatile composition of oak and chestnut woods used in brandy ageing: Modification induced by heat treatment," *Journal of Food Engineering*, vol. 76, pp. 202–211, 2006.
- [44] Adams R., "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy" 4th, Allured Business Media, 2007.
- [45] Engel E., Baty C., Le Corre D., Souchon I. e Martin N., "Flavor-active compounds potentially implicated in cooked cauliflower acceptance," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50 (22), pp. 6459-6467, 2002.
- [46] Beaulieu J. e Grimm C., "Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction," vol. 49 (3), pp. 1345-1352, 2001.

- [47] Schluter S. e Steinhart H., "Changes in the Odorants of Boiled Carp Fillet as Affected by Increasing Methionine Levels in Feed," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47, pp. 5146-5150, 1999.
- [48] Moio L., Langlois D., Etievant P. e Addeo F., "Odor Qualities and Retention Indices of Key Food Odorants," *Italian Journal of Food Science*, vol. 3, pp. 227-237, 1993.
- [49] Adam P., "Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry", Allured Publishing Corporation, 1995.
- [50] Buettner A., "Investigation of Potent Odorants and Afterodor Development in Two Chardonnay Wines Using the Buccal Odor Screening System (BOSS)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52 (8), pp. 2339-2346, 2004.
- [51] Vichi S., Santini C., Natali N., Riponi C., López-Tamames E. e Buxaderas S., "Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by Accelerated Solvent Extraction (ASE) coupled to gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS)," *Food Chemistry*, vol. 102, pp. 1260–1269, 2007.
- [52] Myers M., Issenberg P. e Wick E., "L-leucine as a precursor of isoamyl alcohol and isoamyl acetate, volatile aroma constituents of banana fruit discs," *Phytochemistry*, vol. 9(8), pp. 1693-1700, 1970.
- [53] Mahmoodi A., Roomiani L., Soltani M., Basti A., Kamali A. e Taheri S., "Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils and Extracts from *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus*," *Global Veterinaria*, vol. 9(1), pp. 73-79, 2012.
- [54] "Aromas & flavours," <http://www.wine-pages.com/guests/tom/taste5.htm>. [Acedido em setembro 2015].
- [55] P. Arapitsas, A. Antonopoulos, E. Stefanou e V. Dourtoglou, "Artificial aging of wines using oak chips," *Food Chemistry*, vol. 86(4), pp. 563–570, 2004.
- [56] Burdock G., "Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients," Fifth Edition, CRC Press, 2014.

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e subsequentes características colorimétricas

6 Anexo

6.1 ANEXO 1

Mercado	2010		2011		2012		2013		2014	
	HL	%	HL	%	HL	%	HL	%	HL	%
França	513 298	19,3%	580 022	18,8%	607 755	18,0%	501 190	16,6%	366 659	12,9%
Angola	492 920	18,5%	629 740	20,5%	686 960	20,3%	636 859	21,1%	627 136	22,0%
Reino Unido	194 213	7,3%	211 137	6,9%	217 171	6,4%	199 335	6,6%	199 288	7,0%
E.U.A.	124 148	4,7%	129 221	4,2%	137 592	4,1%	142 860	4,7%	160 199	5,6%
Bélgica	156 208	5,9%	156 273	5,1%	151 331	4,5%	144 484	4,8%	143 284	5,0%
Alemanha	204 529	7,7%	209 482	6,8%	229 860	6,8%	195 958	6,5%	234 820	8,2%
Países Baixos	163 061	6,1%	162 989	5,3%	165 770	4,9%	147 855	4,9%	132 612	4,6%
Canadá	75 229	2,8%	78 464	2,5%	84 419	2,5%	89 989	3,0%	90 412	3,2%
Brasil	85 384	3,2%	96 306	3,1%	96 043	2,8%	94 874	3,1%	97 386	3,4%
Suíça	69 935	2,6%	73 693	2,4%	80 542	2,4%	84 194	2,8%	95 304	3,3%
Suécia	52 301	2,0%	59 634	1,9%	60 705	1,8%	59 743	2,0%	57 531	2,0%
Dinamarca	38 204	1,4%	34 058	1,1%	26 088	0,8%	28 537	0,9%	33 634	1,2%
Polónia	34 084	1,3%	52 650	1,7%	56 760	1,7%	70 599	2,3%	74 436	2,6%
Espanha	43 771	1,6%	118 525	3,8%	248 142	7,3%	173 051	5,7%	45 061	1,6%
China	28 253	1,1%	61 917	2,0%	60 855	1,8%	44 291	1,5%	42 209	1,5%
Luxemburgo	40 990	1,5%	39 935	1,3%	46 808	1,4%	46 481	1,5%	48 944	1,7%
Moçambique	66 423	2,5%	71 211	2,3%	77 868	2,3%	52 077	1,7%	58 674	2,1%
Noruega	26 922	1,0%	25 441	0,8%	28 530	0,8%	28 540	0,9%	28 023	1,0%
Itália	21 561	0,8%	20 528	0,7%	41 319	1,2%	18 346	0,6%	20 892	0,7%
Macau	17 561	0,7%	19 574	0,6%	18 791	0,6%	15 515	0,5%	20 428	0,7%
Japão	10 570	0,4%	12 070	0,4%	14 474	0,4%	15 167	0,5%	15 129	0,5%
Guiné-Bissau	44 154	1,7%	61 809	2,0%	67 635	2,0%	64 250	2,1%	68 949	2,4%
Países PT N/ Determ.	1 216	0,0%	1 460	0,0%	1 534	0,0%	2 000	0,1%	2 123	0,1%
São Tomé e Príncipe	37 920	1,4%	39 702	1,3%	37 468	1,1%	32 825	1,1%	39 174	1,4%
Finlândia	11 757	0,4%	10 415	0,3%	12 927	0,4%	8 971	0,3%	8 961	0,3%
Restantes Destinos	111 843	4,2%	122 355	4,0%	128 370	3,8%	125 238	4,1%	141 321	5,0%
Total	2 666 454	100,0%	3 078 610	100,0%	3 385 714	100,0%	3 023 228	100,0%	2 852 590	100,0%

Fonte: Elaboração própria com base na informação do INE

Figura 6.1 – Exportações de Portugal (fonte: IVV,2014 [7])

Em Volume

Mercado	2010		2011		2012		2013		2014	
	HL	%	HL	%	HL	%	HL	%	HL	%
Espanha	1 725 118	95,0%	1 546 577	94,5%	1 172 679	92,8%	1 512 218	94,6%	2 108 626	95,3%
França	16 852	0,9%	14 062	0,9%	15 969	1,3%	14 781	0,9%	11 227	0,5%
Itália	61 621	3,4%	65 361	4,0%	62 758	5,0%	56 922	3,6%	60 023	2,7%
Alemanha	7 137	0,4%	5 531	0,3%	5 910	0,5%	7 713	0,5%	5 735	0,3%
Finlândia	—	0,0%	—	0,0%	222	0,0%	—	0,0%	22 833	1,0%
Reino Unido	236	0,0%	734	0,0%	1 241	0,1%	1 063	0,1%	927	0,0%
Países Baixos	647	0,0%	523	0,0%	503	0,0%	759	0,0%	352	0,0%
Nova Zelândia	198	0,0%	674	0,0%	589	0,0%	603	0,0%	496	0,0%
Dinamarca	1 494	0,1%	506	0,0%	246	0,0%	824	0,1%	281	0,0%
Bélgica	93	0,0%	28	0,0%	185	0,0%	83	0,0%	80	0,0%
Chile	1 158	0,1%	646	0,0%	654	0,1%	678	0,0%	571	0,0%
Argentina	400	0,0%	752	0,0%	423	0,0%	471	0,0%	314	0,0%
Restantes Destinos	1 308	0,1%	694	0,0%	1 605	0,1%	1 677	0,1%	1 535	0,1%
Total Geral	1 816 263	100,0%	1 636 088	100,0%	1 262 986	100,0%	1 597 792	100,0%	2 212 999	100,0%

Fonte: Elaboração própria com base na informação do INE

Figura 6.2 - Importações de Portugal (fonte: IVV,2014 [7])

6.2 ANEXO 2

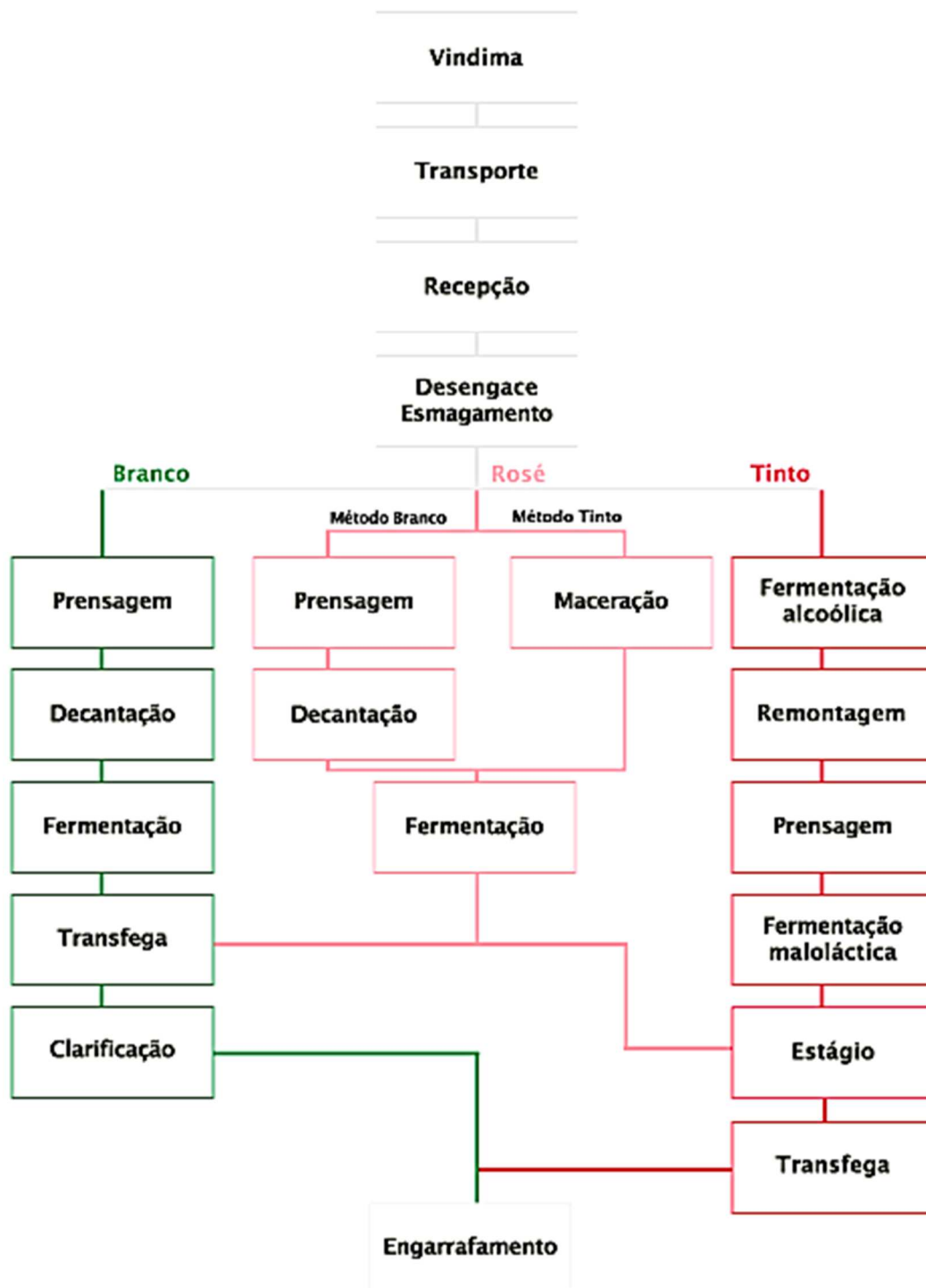


Figura 6.3 - Esquema geral da produção de vinho [4]

6.3 ANEXO 3

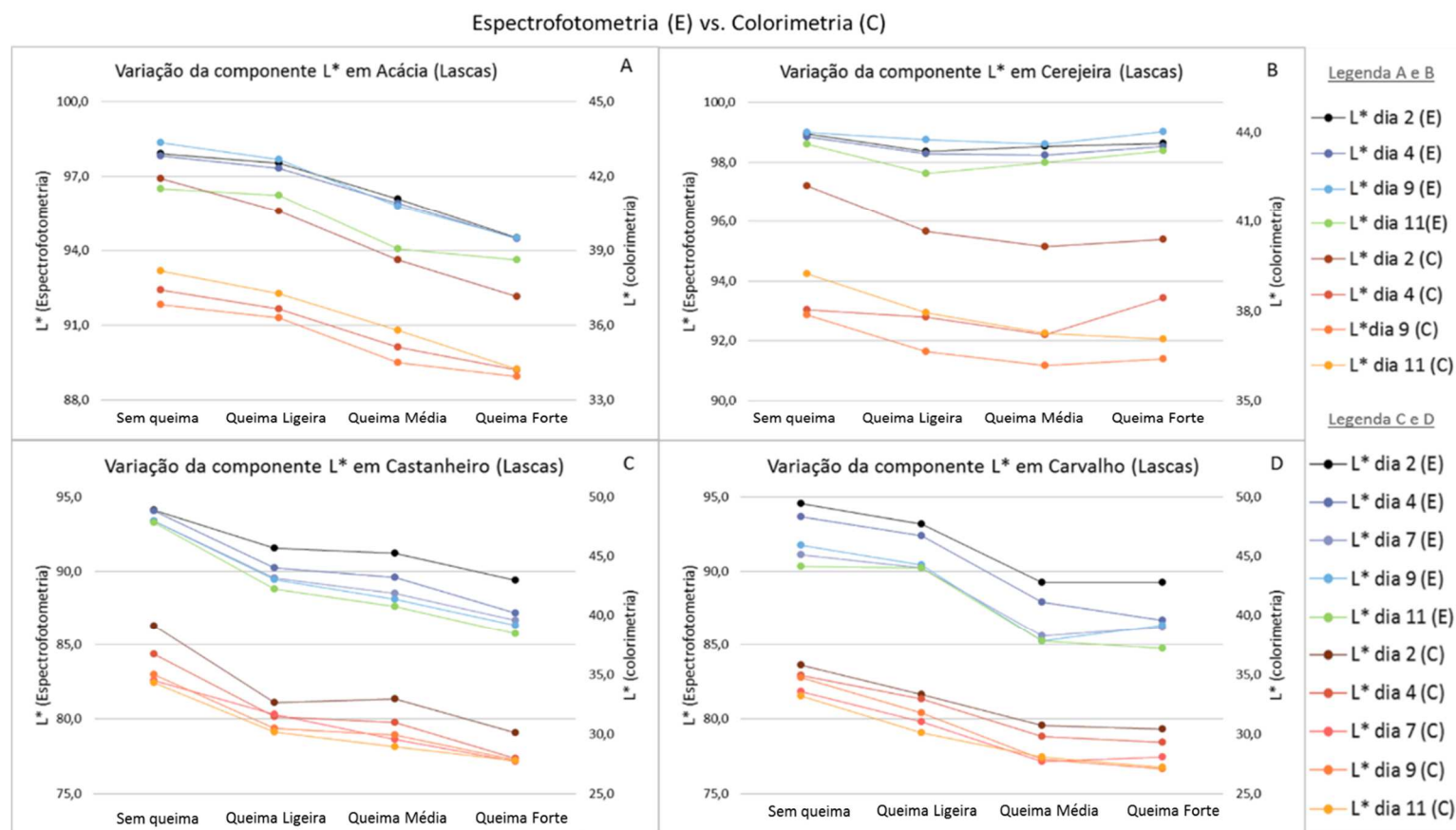


Figura 6.4 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L* - Figura 3.22 presente no Capítulo 3.3.1.ampliada (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

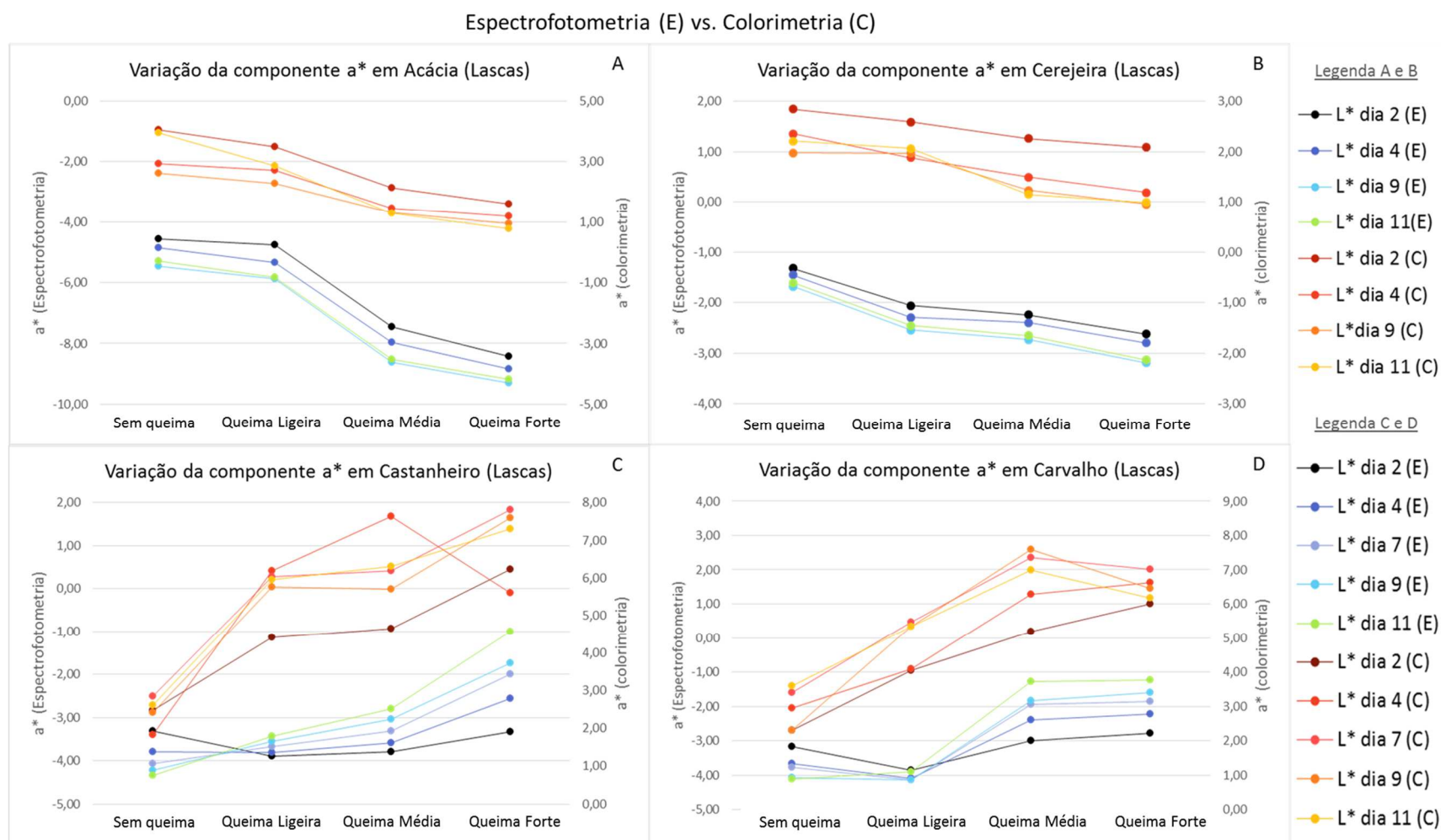


Figura 6.5 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a* - Figura 3.23 presente no Capítulo 3.3.1.ampliada (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

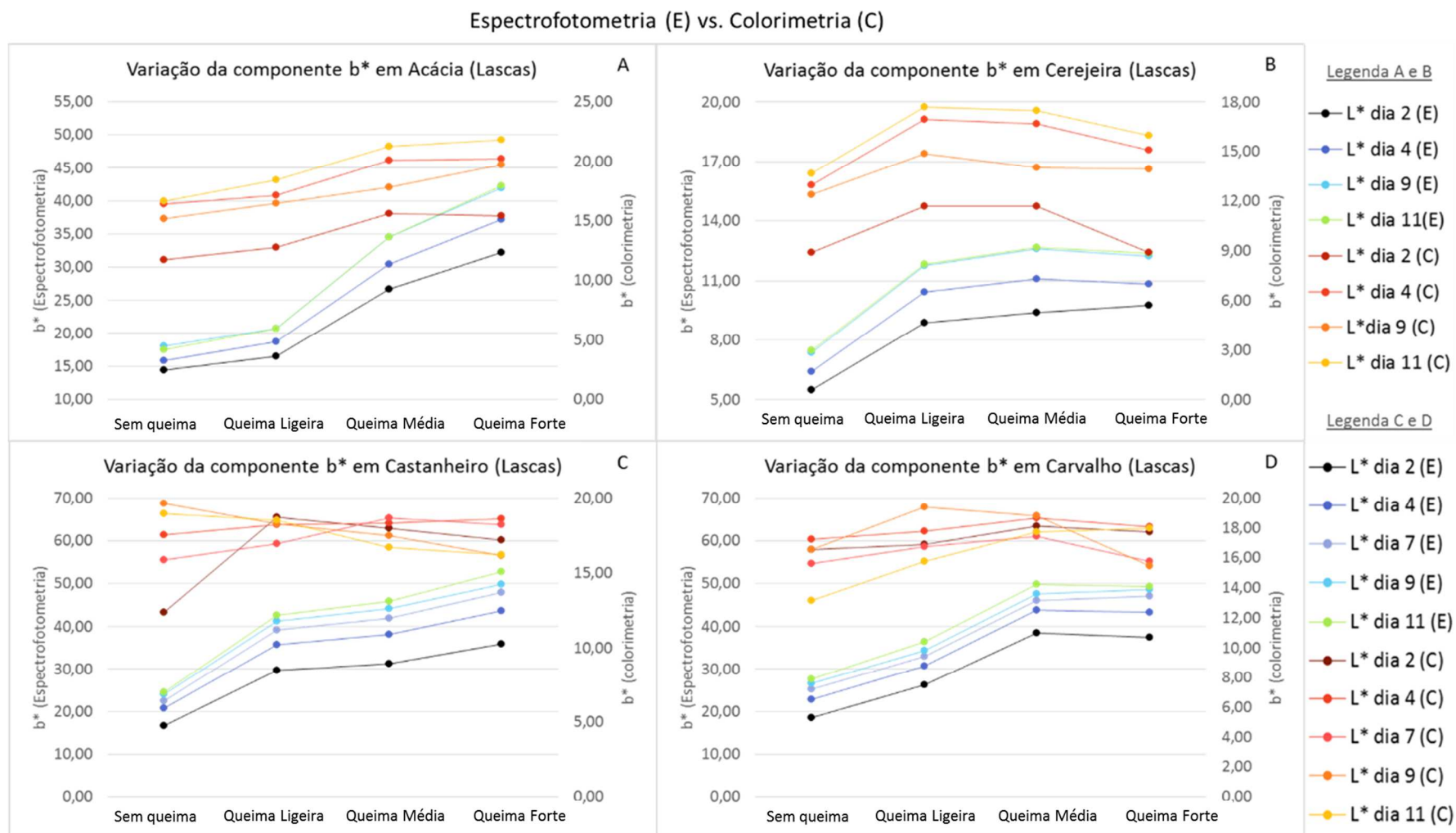


Figura 6.6 - Comparação dos resultados obtidos por espectrofotometria (E) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 1 (C) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b*- Figura 3.24 presente no Capítulo 3.3.1.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

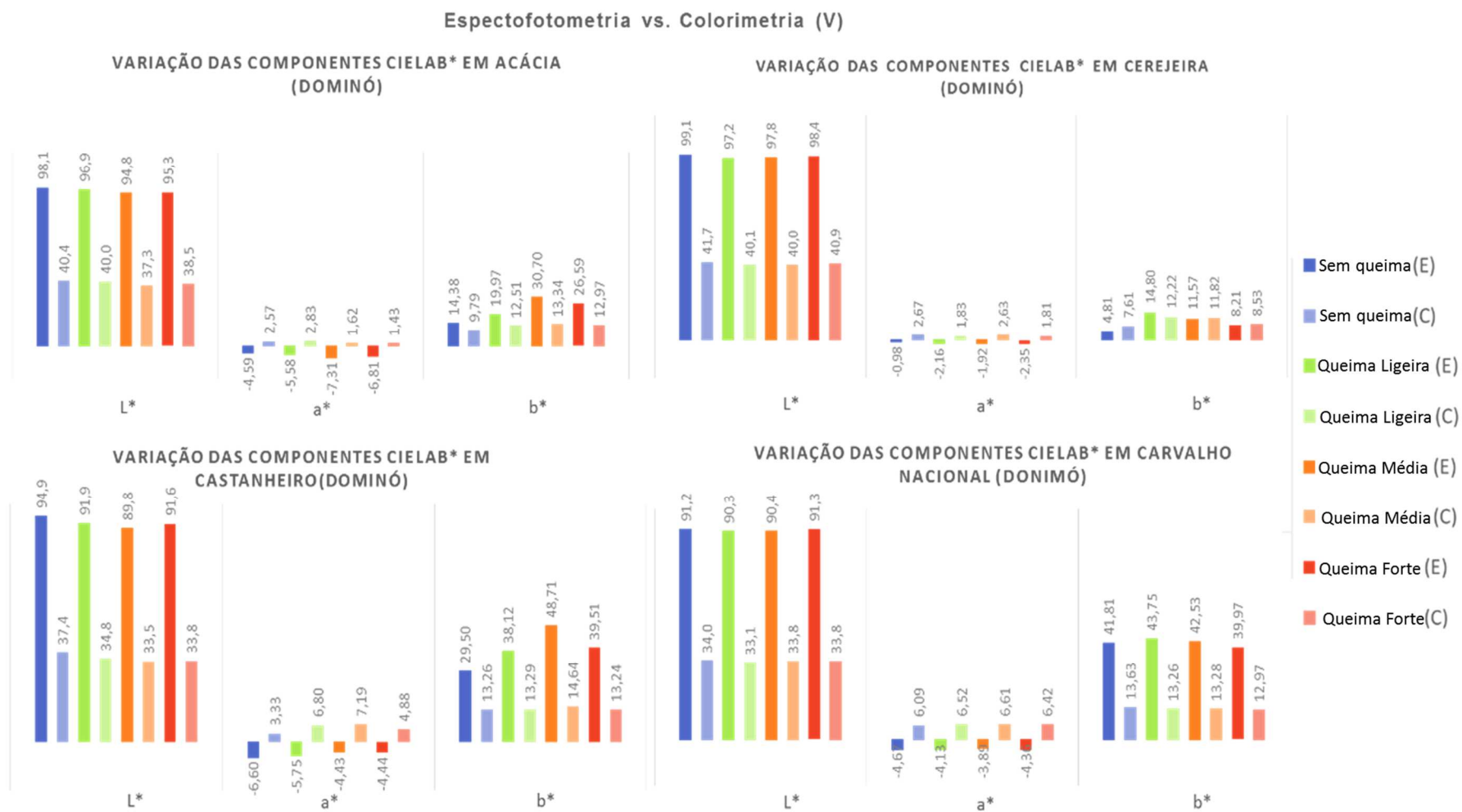


Figura 6.7 - Comparação dos resultados CIE Lab de SH- dominós obtidos por espectrofotometria (E) e por colorimetria-tecnica1 (C)

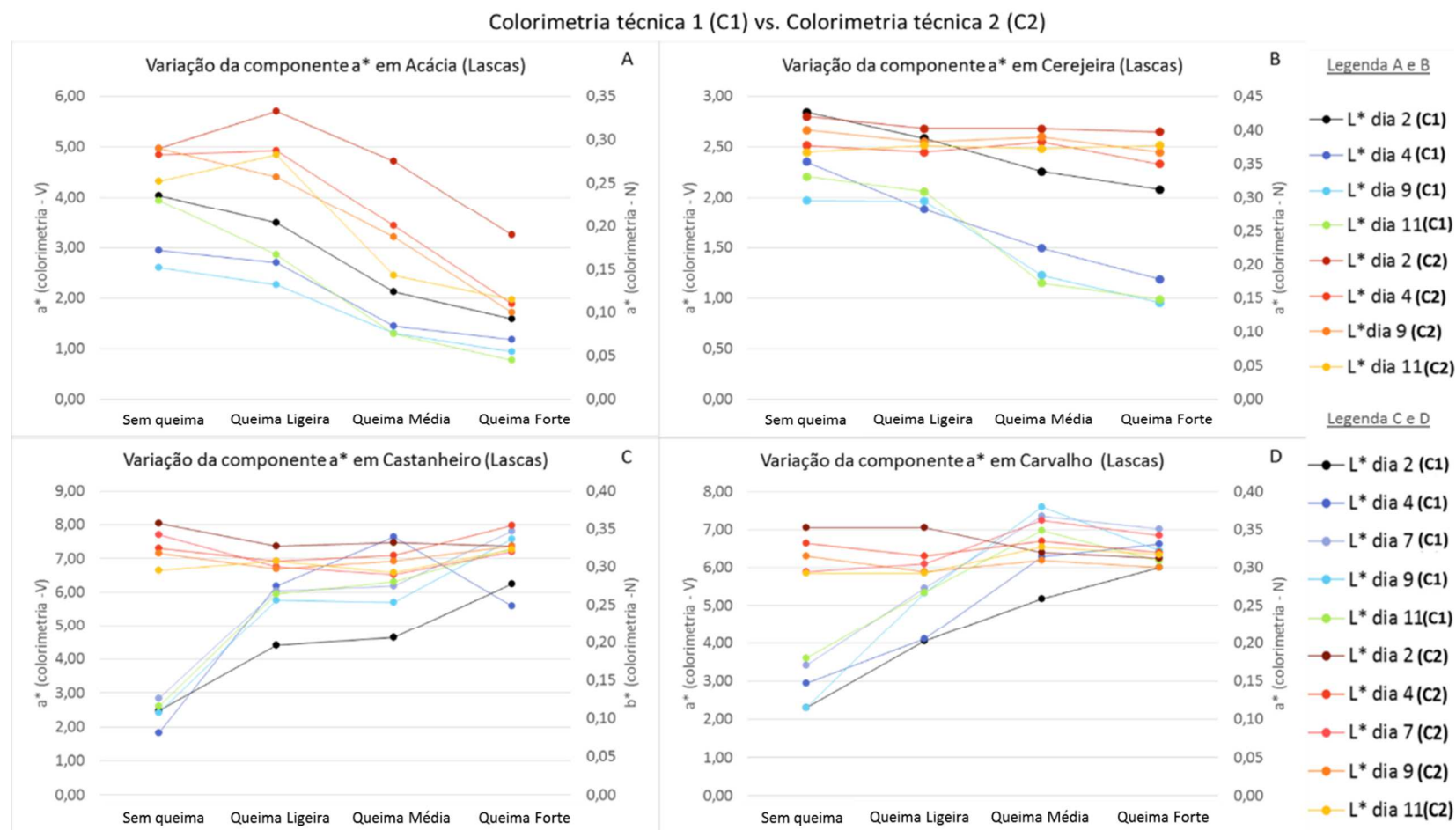


Figura 6.8 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica L*- Figura 3.27 presente no Capítulo 3.3.2.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

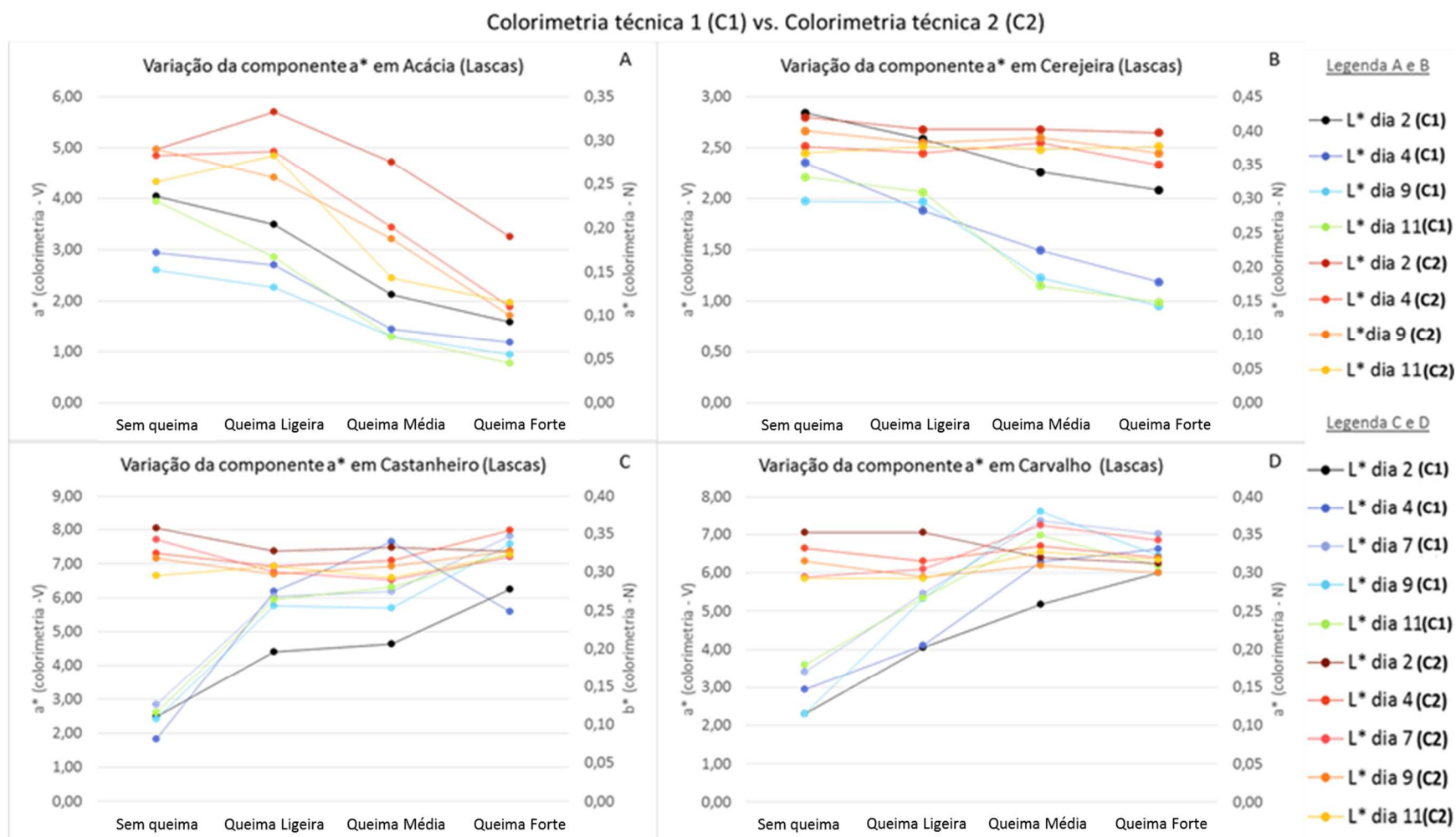


Figura 6.9 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica a*- Figura 3.28 presente no Capítulo 3.3.2.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

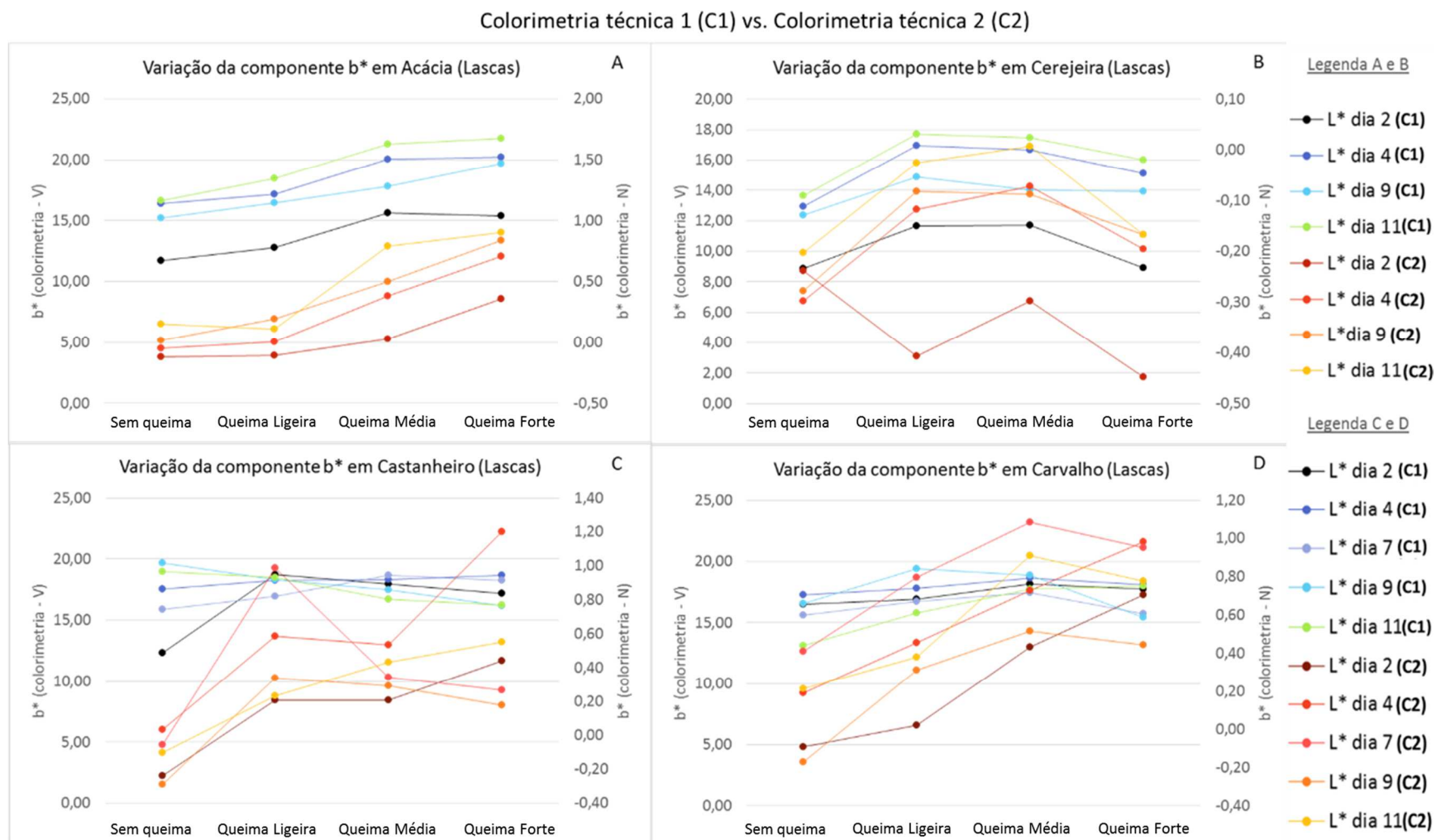


Figura 6.10 - Comparação dos resultados obtidos por colorimetria-técnica 1 (C1) (eixos à esquerda) e por colorimetria-técnica 2 (C2) (eixos à direita) relativo à componente colorimétrica b*- Figura 3.28 presente no Capítulo 3.3.2.ampliada. (A) SH-acácia; (B) SH-cerejeira; (C) SH-castanheiro; (D) SH-carvalho.

6.4 ANEXO 4

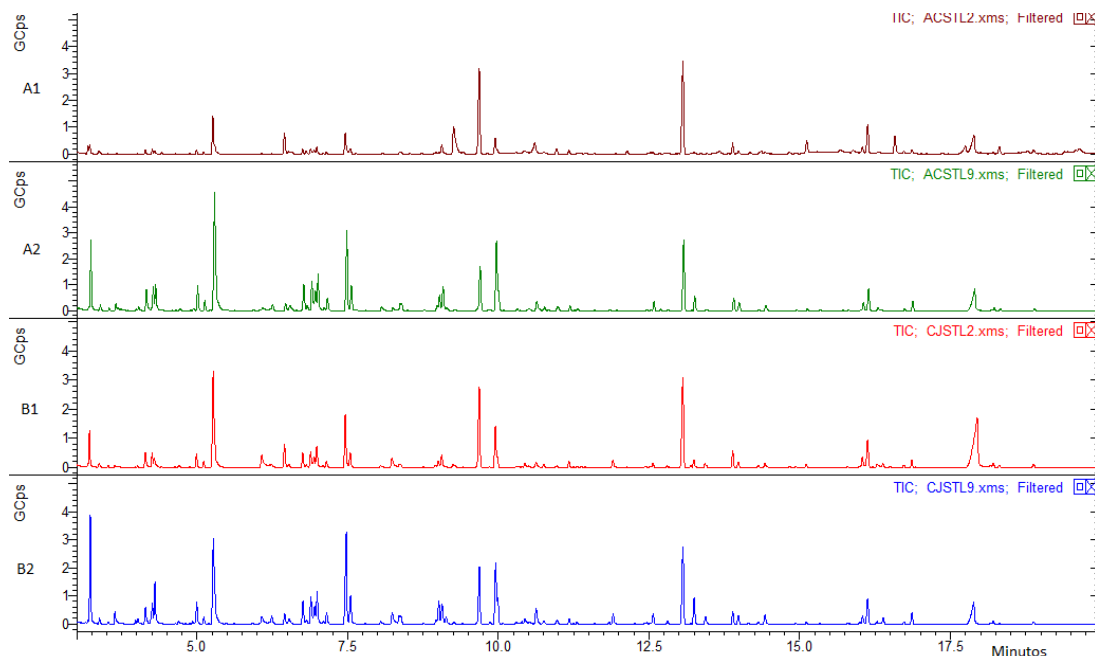


Figura 6.11 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) sem queima no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

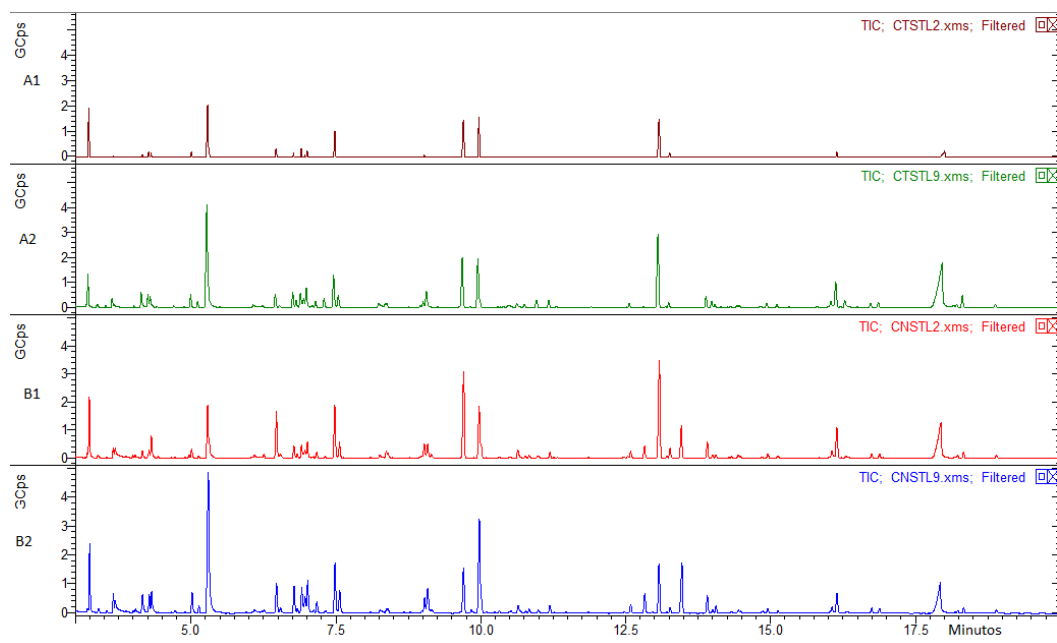


Figura 6.12 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) sem queima no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e
subsequentes características colorimétricas

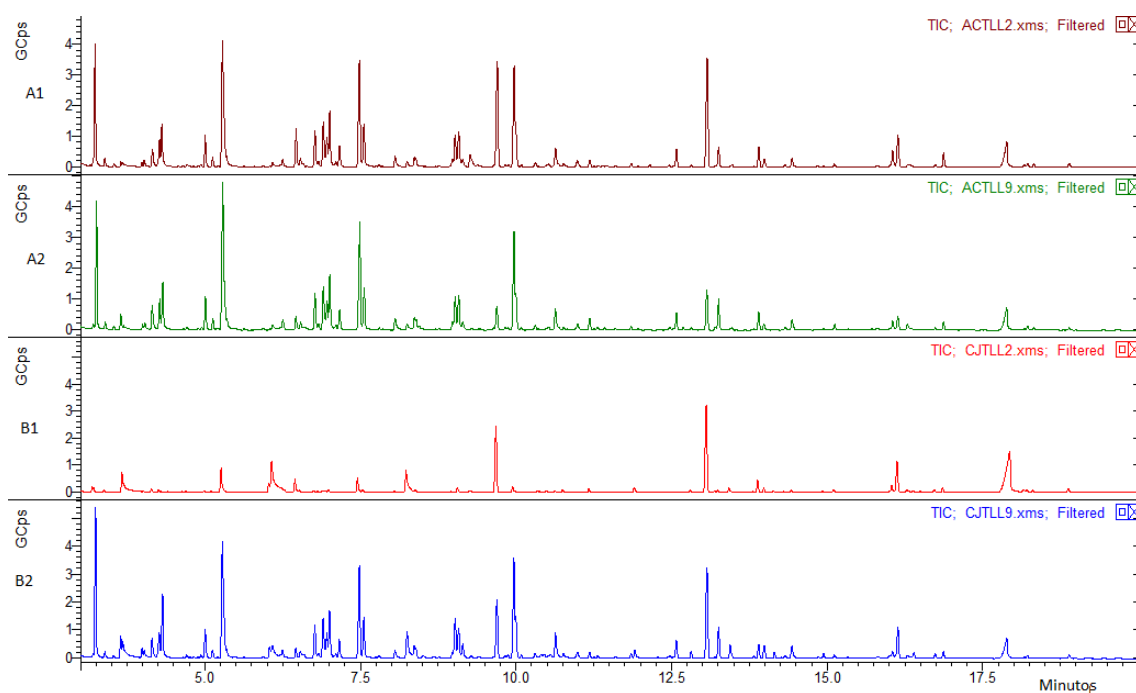


Figura 6.13 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) com queima ligeira no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

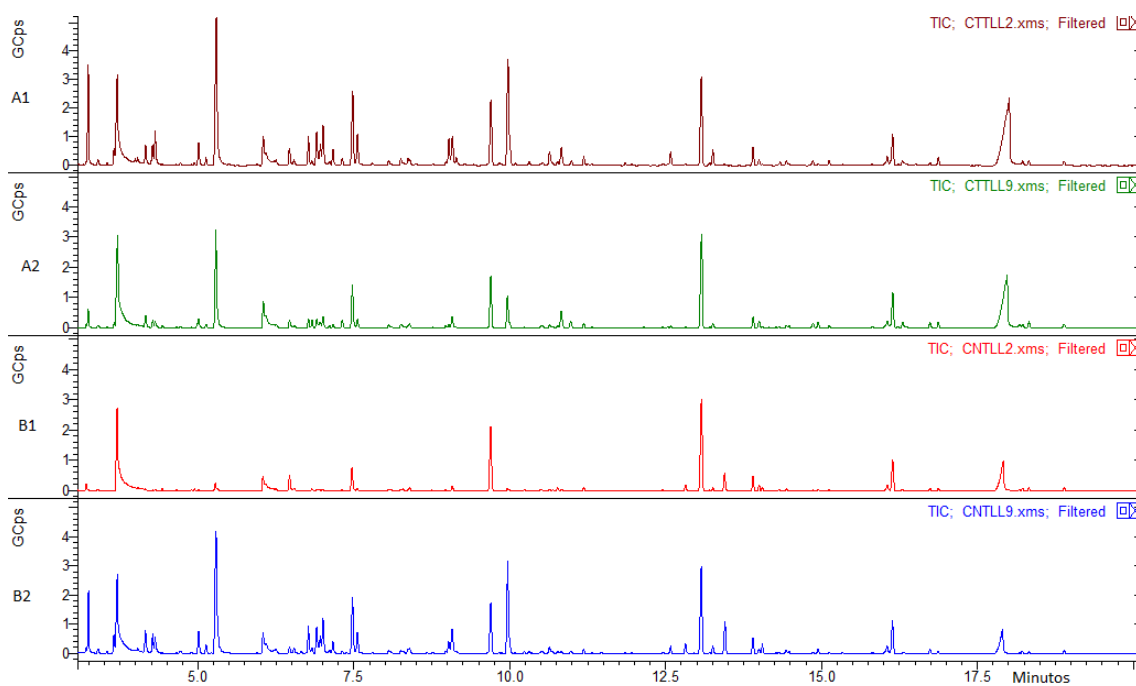


Figura 6.14 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) com queima ligeira no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

Conteúdo em Polifenóis totais do vinho em contacto com aparas de madeira e
subsequentes características colorimétricas

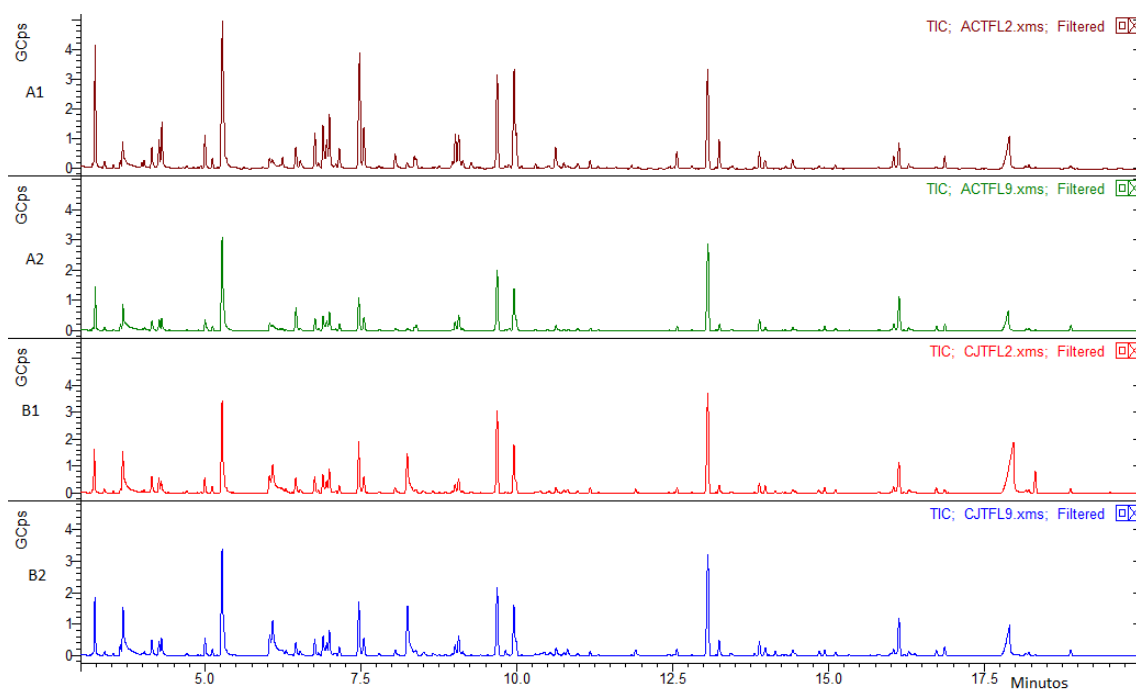


Figura 6.15 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Acácia (A) e de Cerejeira (B) com queima Forte no dia 2 (1) e no dia 9 (2)

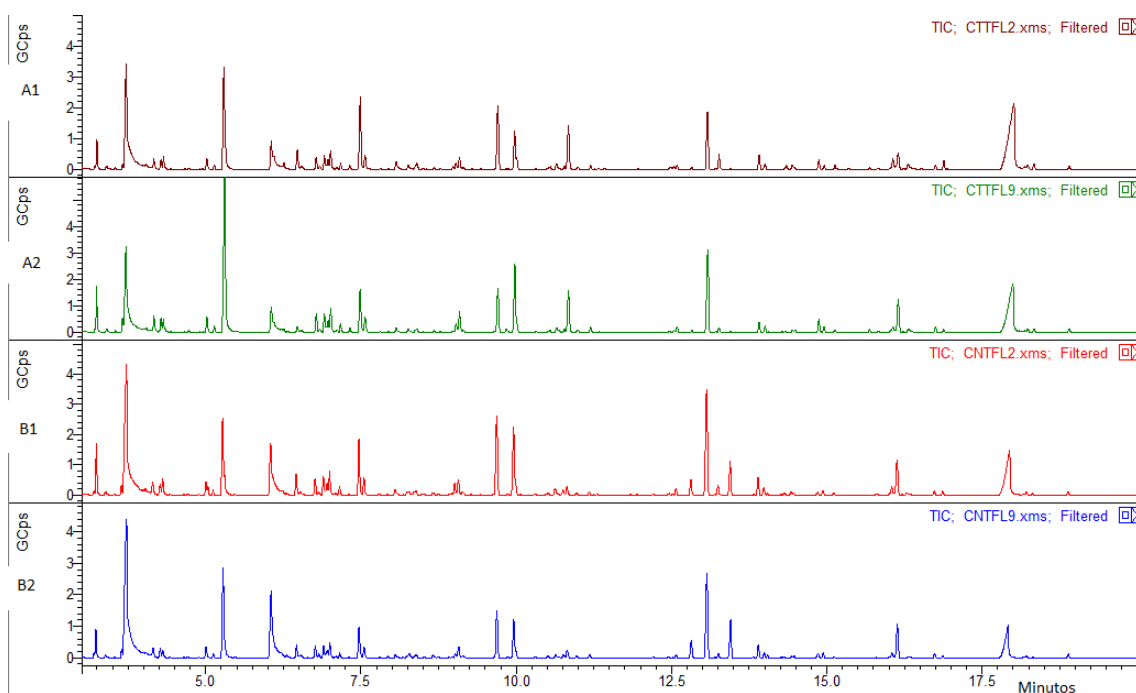


Figura 6.16 - Perfis cromatográficos de GC/MS das madeiras de Castanheiro (A) e de Carvalho (B) com queima forte no dia 2 (1) e no dia 9 (2)